

Suppressorzellpopulationen im peripheren Blut
von Patienten mit kolorektalen Tumoren

von
Andrea Schumacher
aus
Nürnberg

1983 # 125

Aus dem Institut und Poliklinik für klinische Immunologie und Rheumatologie
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Kalden

Suppressorzellpopulationen im peripheren Blut von Patienten mit kolorektalen Tumoren

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich - Alexander - Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

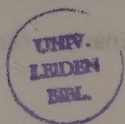
von

Andrea Schumacher

aus

Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. V. Becker
Referent: Prof. Dr. J.R. Kalden

Tag der mündlichen Prüfung: 07.03.1983

Inhalt

	Seite
Einleitung	1
Erstes Buch	1
I. Die Entstehung der Sprache	1
II. Die Entwicklung der Sprache	2
III. Die Bedeutung der Sprache	3
IV. Die Funktion der Sprache	4
V. Die Struktur der Sprache	5
VI. Die Geschichte der Sprache	6
VII. Die Zukunft der Sprache	7
VIII. Die Sprache und die Kultur	8
IX. Die Sprache und die Gesellschaft	9
X. Die Sprache und die Wissenschaft	10
XI. Die Sprache und die Kunst	11
XII. Die Sprache und die Religion	12
XIII. Die Sprache und die Philosophie	13
XIV. Die Sprache und die Politik	14
XV. Die Sprache und die Ethik	15
XVI. Die Sprache und die Medizin	16
XVII. Die Sprache und die Naturwissenschaft	17
XVIII. Die Sprache und die Technik	18
XIX. Die Sprache und die Wirtschaft	19
XX. Die Sprache und die Rechtswissenschaft	20
XXI. Die Sprache und die Sozialwissenschaft	21
XXII. Die Sprache und die Pädagogik	22
XXIII. Die Sprache und die Psychologie	23
XXIV. Die Sprache und die Biologie	24
XXV. Die Sprache und die Chemie	25
XXVI. Die Sprache und die Physik	26
XXVII. Die Sprache und die Astronomie	27
XXVIII. Die Sprache und die Geographie	28
XXIX. Die Sprache und die Historie	29
XXX. Die Sprache und die Archäologie	30
XXXI. Die Sprache und die Ethnologie	31
XXXII. Die Sprache und die Anthropologie	32
XXXIII. Die Sprache und die Zoologie	33
XXXIV. Die Sprache und die Botanik	34
XXXV. Die Sprache und die Mineralogie	35
XXXVI. Die Sprache und die Geologie	36
XXXVII. Die Sprache und die Meteorologie	37
XXXVIII. Die Sprache und die Klimatologie	38
XXXIX. Die Sprache und die Ozeanographie	39
XL. Die Sprache und die Kosmographie	40
XLI. Die Sprache und die Kosmologie	41
XLII. Die Sprache und die Kosmopolitik	42
XLIII. Die Sprache und die Kosmoethik	43
XLIV. Die Sprache und die Kosmopsychologie	44
XLV. Die Sprache und die Kosmobiologie	45
XLVI. Die Sprache und die Kosmochemie	46
XLVII. Die Sprache und die Kosmophysik	47
XLVIII. Die Sprache und die Kosmoastronomie	48
XLIX. Die Sprache und die Kosmogographie	49
L. Die Sprache und die Kosmoethnologie	50
LI. Die Sprache und die Kosmoanthropologie	51
LII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	52
LIII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	53
LIV. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	54
LV. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	55
LVI. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	56
LVII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	57
LVIII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	58
LIX. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	59
LX. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	60
LXI. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	61
LXII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	62
LXIII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	63
LXIV. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	64
LXV. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	65
LXVI. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	66
LXVII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	67
LXVIII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	68
LXIX. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	69
LXX. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	70
LXXI. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	71
LXXII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	72
LXXIII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	73
LXXIV. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	74
LXXV. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	75
LXXVI. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	76
LXXVII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	77
LXXVIII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	78
LXXIX. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	79
LXXX. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	80
LXXXI. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	81
LXXXII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	82
LXXXIII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	83
LXXXIV. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	84
LXXXV. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	85
LXXXVI. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	86
LXXXVII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	87
LXXXVIII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	88
LXXXIX. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	89
LXXXX. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	90
LXXXXI. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	91
LXXXXII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	92
LXXXXIII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	93
LXXXXIV. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	94
LXXXXV. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	95
LXXXXVI. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	96
LXXXXVII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	97
LXXXXVIII. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	98
LXXXXIX. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	99
LXXXXX. Die Sprache und die Kosmopsychiatrie	100

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Material und Methoden	7
Isolierung der Lymphozyten aus peripherem Blut	7
Lymphozytentransformationstest (LTT)	9
Con A-aktivierbare Suppressorzellen	10
Prostaglandin-produzierende Suppressorzellen	12
Direkte Prostaglandinbestimmung	13
Auswertung	14
Ergebnisse	15
Mitogen-induzierte Proliferation	15
Con A-aktivierbare Suppressorzellen	22
Prostaglandin-produzierende Suppressorzellen	27
Direkte Prostaglandinbestimmung	31
Diskussion	34
Zusammenfassung	46
Anhang	48
Literaturverzeichnis	49

Einleitung

Eine unumstrittene und allgemein bekannte Grundtatsache der Immunologie ist die Differenzierung der Lymphozyten in T- und B-Zellen.

In den letzten Jahren wird jedoch zunehmend deutlich, daß diese klassische Zweiteilung den tatsächlichen Gegebenheiten in keiner Weise gerecht wird. Vielmehr kann inzwischen davon ausgegangen werden, daß es insbesondere in der Population der T-Zellen Subpopulationen gibt, die als sogenannte Helfer- bzw. Suppressorzellen die Wechselwirkungen der T-Zellen untereinander bzw. die Wirkung der T-Zellen auf die B-Zellen beeinflussen (68). Speziell die erwähnten Suppressorzellen spielen dabei eine entscheidende Rolle in der Regulation spezifischer und unspezifischer Kontrollmechanismen der Immunantwort (73). Zahlreiche experimentelle Untersuchungen haben sich daher in den vergangenen Jahren mit der Problematik dieser Zellen beschäftigt und versucht, Einblick in die von ihnen hervorgerufenen Vorgänge zu gewinnen.

Dabei fanden sich die unterschiedlichsten Arten von Suppressorzellaktivität. So können z.B. durch Inkubation mit dem Mitogen Phytohaemagglutinin Suppressorzellen aktiviert werden (5,54,59,99,100); eine ähnliche Induktion scheint auch durch Histamin möglich zu sein (84). Erwähnung verdient ebenso die von DWYER und JOHNSON in jüngster Zeit beschriebene Klasse von spontanen Suppressorzellen (21). Suppressiv wirkende Zellen wurden jedoch nicht nur unter den T-Zellen gefunden; Arbeiten liegen vor über ein von adhärenenten Zellen ausgehendes Suppressorsystem (55,70) und über die Aktivität sogenannter Suppressor-Makrophagen (56,81).

Unter diesen zahlreichen Suppressorzellpopulationen, über die bisher teilweise nur Einzelberichte existieren,

und von denen noch nicht bekannt ist, ob sie tatsächlich eine Vielzahl verschiedener Klassen darstellen oder lediglich als unterschiedliche Ausdrucksformen einiger weniger Zellgruppen anzusehen sind, ragen zwei heraus, die gegenwärtig in besonderem Maße das Interesse auf sich ziehen, und die auch bereits in umfangreicheren Untersuchungen näher definiert wurden: 1. Suppressorzellen, die sich durch Inkubation mit dem Mitogen Concanavalin A (Con A) aktivieren lassen, und 2. Suppressorzellen, die ihre Wirkung über eine Freisetzung von Prostaglandinen entfalten.

Über die mögliche Existenz Con A-aktivierbarer Suppressorzellen wurde erstmals 1972 von DUTTON berichtet; er beschreibt den suppressiven Effekt von Con A auf die antigen-induzierte Proliferation von Mäusemilz-Lymphozyten (17). Auf dieser Erkenntnis aufbauend folgten bald zahlreiche weitere tierexperimentelle Untersuchungen (18,30). 1976 machten dann SHOU et al. die Entdeckung, daß sich auch menschliche periphere Blut-Lymphozyten durch Inkubation mit Con A zu Suppressorzellen aktivieren lassen (78). Ihre grundlegenden Ergebnisse konnten in der Zwischenzeit von zahlreichen Autoren bestätigt werden (14,22,45,59 u.v.a.); zudem sind seither viele morphologische und funktionelle Einzelheiten über diese Zellpopulation bekannt geworden.

So gehören die Con A-Suppressorzellen den T-Zellen an und speziell unter diesen einer T-Zell-Subpopulation hoher Dichte (72). Sie sind in einer Zellkultur nicht stabil (5,70), ihre Aktivität ist jedoch resistent gegenüber Bestrahlung (79). Die suppressive Wirkung der Zellen läßt sich einerseits durch die Hemmung der mitogen-, antigen- oder MLC-induzierten Proliferation von T-Zellen zum Ausdruck bringen (78), andererseits aber auch durch eine Verminderung der durch B-Zellen hervorgerufenen Immunglobulin-Produktion (25,39,40,54).

Dabei ist inzwischen nachgewiesen, daß diese Wirkungen nicht auf einem zytotoxischen Geschehen beruhen, sondern Ergebnis einer echten Suppression sind (78,79). Eine wesentliche Rolle bei der Induktion der Suppressorzellen mit Con A scheint die vorhergehende Aktivierung der entsprechenden T-Zellen innerhalb einer autologen MLC zu spielen (47), notwendig dürfte auch die Anwesenheit von Makrophagen in der Kultur sein (20,60,67). Eine pharmakologische Beeinflussung des Induktionsvorgangs ist mit Histamin (76) bzw. Cortison (19,52,79) möglich; beide Substanzen hemmen dabei die Suppressorzellaktivierung. Zugabe von Cortison zur sekundären Zellkultur verstärkt dagegen den suppressiven Effekt (79). Einigkeit herrscht weiterhin darin, daß die Suppressorzellinduktion unabhängig von der DNS-Synthese erfolgen kann, während unklar ist, in wieweit Abhängigkeit von der Proteinsynthese besteht (77,79).

Weitgehend unbekannt ist bisher, auf welche Weise die Con A-aktivierten Suppressorzellen ihre Wirkung entfalten. Eine mögliche Erklärung geht davon aus, daß Con A die T-Zellen zur Produktion einer Substanz stimuliert, die die mitogen-induzierte Proliferation negativ beeinflusst (79). In diese Richtung weisen Untersuchungen, die von der Bildung eines suppressiv wirkenden Überstandes in den Zellkulturen berichten (3,27,37,49,61). Zu diskutieren ist andererseits auch die Inaktivierung eines unspezifischen T-Zell-Helfer-Faktors (25). Zumindest ein weiterer Mechanismus könnte die Fähigkeit der Con A-Suppressorzellen zur Absorption des für die mitogen-induzierte Proliferation notwendigen TCGF (T-cell growth factor) sein (64). Eine ganz andere Wirkungsweise zeigen dagegen Untersuchungen auf, die eine Vermittlung der Suppressorzellaktivität durch membrangebundene Rezeptoren vermuten lassen (58).

Die Tatsache, daß Prostaglandine (PG) in Lymphozytenkulturen eine Rolle spielen, wurde erstmals von FERRARIS und DE RUBERTIS ausführlich beschrieben; sie berichten von Ergebnissen, nach denen Lymphozyten auf die Stimulation mit Mitogenen hin vermehrt endogen gebildetes Prostaglandin E freisetzen (24). Anderen Untersuchungen zufolge ist umgekehrt exogen zugeführtes PG in der Lage, die mitogen-induzierte Proliferation zu hemmen (66). Beide Arbeiten konnten 1977 von GOODWIN et al. bestätigt werden; sie wiesen zusätzlich nach, daß durch Zugabe von Indometacin oder anderen Hemmstoffen der PG-Synthese die Proliferationsfähigkeit der Lymphozyten gesteigert werden kann (32). Auf diesen Ergebnissen aufbauend postulieren sie die Existenz einer Suppressorzellpopulation, die der Gruppe der an Glaswolle-adhärenenten Zellen angehört und ihre Wirkung über eine Freisetzung von Prostaglandinen entfalten (32). Dabei scheinen als wirksame PG-Komponenten hauptsächlich die Prostaglandine E1 und E2 in Betracht zu kommen (29).

Dagegen beschreibt die Arbeitsgruppe um WEBB einen demgegenüber etwas modifizierten Mechanismus der PG-vermittelten Suppressorzellaktivität. Nach ihren Untersuchungen aktiviert von nicht-adhärenenten T-Zellen gebildetes Prostaglandin (96) die an Glaswolle-adhärenenten Zellen zur Freisetzung eines suppressiv wirkenden Faktors, der seinerseits die mitogen-induzierte Proliferation hemmt (71). Dabei ist zur PG-Produktion möglicherweise zusätzlich eine Interaktion der nicht-adhärenenten Zellen mit Makrophagen notwendig (97).

Neben den zahlreichen Arbeiten zur Klassifizierung und Charakterisierung der verschiedenen Suppressorzellpopulationen wandte sich das Interesse schon sehr bald auch der Frage zu, ob und in welchem Ausmaß bei diversen Krankheitsbildern Veränderungen dieser immunologischen Phänomene auftreten.

Erste Hinweise auf gestörte Suppressorzellfunktionen fanden sich dabei z.B. für Hypogammaglobulinämie (94), verschiedene Infektionskrankheiten (80), aplastische Anämie (43) und systemischen Lupus erythematodes (9,83).

Entsprechende Untersuchungen in Verbindung mit malignen Erkrankungen wurden zunächst hauptsächlich am Tiermodell durchgeführt (Übersichten bei 1 und 11); es gibt jedoch auch einzelne Berichte über ein verändertes Verhalten von Suppressorzellen bei Patienten mit Multiplem Myelom (10) und M. Hodgkin (87,88). Einen indirekten Hinweis auf einen Zusammenhang zwischen Suppressorzellaktivität und Tumorgeschehen liefern dabei Befunde, die eine Induktion von Suppressorzellen durch Alpha-Fetoprotein vermuten lassen (62).

Ergebnisse, die sich speziell auf Con A-induzierte Suppressorzellen beziehen, liegen vor für Patienten mit rheumatoider Arthritis (15,92) sowie mit systemischem Lupus erythematodes (63); eine Verminderung der Con A-Suppressorzellaktivität läßt sich außerdem bei M. Hodgkin finden (75). Erwähnenswert sind dabei auch Berichte von CATALONA et al., nach denen regionale Lymphknoten von Tumorpatienten durch Con A aktivierbare Suppressorzellvorstufen enthalten (12).

Eine Veränderung der PG-produzierenden Suppressorzellen wurde bisher für Patienten mit rheumatoider Arthritis (101) bzw. mit M. Hodgkin (33) beschrieben; in beiden Fällen scheint dabei eine gesteigerte Aktivität dieser Zellpopulation vorzuliegen.

Nur sehr vereinzelte immunologische Erkenntnisse existieren dagegen zur Problematik maligner Erkrankungen des Dickdarms - trotz der zunehmenden Bedeutung, die dieses Gebiet in den letzten Jahren für die Medizin erlangt hat. Bekannt sind Untersuchungen über eine verminderte Zytotoxizität bei kolorektalen Tumoren (51) sowie die Befunde von REMACLE-BONNET et al., denen es gelang, aus dem Über-

stand von lyophilisiertem Kolonkarzinomgewebe einen Faktor zu extrahieren, der eine suppressive Wirkung gegenüber der mitogen-induzierten Proliferation normaler Lymphozyten besitzt (69). Spezielle Berichte über eine erniedrigte Aktivität der Con A-Suppressorzellen liegen lediglich für die entzündlichen Darm-erkrankungen M. Crohn und Colitis ulcerosa vor (42). Zwar finden sich bei HUBBARD et al. entsprechende Ergebnisse auch für vier Patienten mit kolorektalen Tumoren (44); da diese jedoch nur im Rahmen allgemeiner Suppressorzell-Untersuchungen bei verschiedenen Karzinomen beschrieben und nicht differenziert dargestellt sind, können sie nicht unbedingt als repräsentativ angesehen werden.

Ziel der nachfolgend beschriebenen Versuche war es deshalb, das Verhalten der Con A-induzierbaren sowie der PG-produzierenden Suppressorzellen im peripheren Blut von Patienten mit kolorektalen Tumoren näher zu untersuchen, und eine gegenüber gesunden Kontrollpersonen möglicherweise veränderte Aktivität dieser Zellpopulationen aufzudecken.

Material und Methoden

Untersucht wurden 27 Patienten mit kolorektalen Tumoren (die Blutentnahme erfolgte dabei stets vor einem operativen Eingriff) sowie 25 gesunde Kontrollpersonen. Einen Vergleich der beiden Kollektive hinsichtlich Alter und Geschlechtsverteilung zeigt Tab. 1.

	Patienten	Kontrollen
Anzahl	n = 27	n = 25
Geschlechtsverteilung	16 männlich 11 weiblich	11 männlich 14 weiblich
Alter im Mittel	41 - 80 Jahre 61,9 Jahre	21 - 45 Jahre 29,8 Jahre

Tab. 1:
Vergleich der
beiden unter-
suchten Kol-
lektive

Isolierung der Lymphozyten aus peripherem Blut (?)

Jedem Probanden wurden durch Punktion einer peripheren Vene ca. 150 ml Blut entnommen und mit 10 I.E./ml Heparin-Natrium (Vetren, Promonta GmbH, Hamburg) versetzt. Das venöse Blut wurde zunächst 1:1 mit Hanks-Lösung (Apotheke der Klinischen Universitätsanstalten Erlangen) verdünnt und dann in sterilen Glasröhrchen vorsichtig über 15 ml Ficoll (Lymphocytes Separation Medium, Flow Laboratories Ltd., Irvine, USA) geschichtet. Nach 20-minütiger Zentri-

fugation bei 750 g wurde der Lymphozytenring der Interphase mit einer Pipette vorsichtig abgehoben und in einem 50-ml-Plastikröhrchen (Falcon, Oxnard, USA) in Hanks-Lösung aufgenommen. Diese Zellsuspension wurde anschließend noch zweimal mit Hanks-Lösung gewaschen. Bei einer eventuellen Verunreinigung durch Erythrozyten wurde dabei zusätzlich eine Behandlung der Zellen mit NH_4Cl zwischengeschaltet; dafür wurde das Sediment in 35 ml einer 0,83 %igen NH_4Cl -Lösung (Merck, Darmstadt) gelöst und diese Suspension im Wasserbad 5 Minuten lang bei 37°C inkubiert.

Die so gewonnenen peripheren Blut-Lymphozyten (PBL) wurden dann in Kulturmedium RO^+ - entspricht RPMI (Gibco, Karlsruhe) + 2% 200 m L-Glutamin + 1% 1,5 m HEPES (Sero-med, München) + 1% Penstrep (50.000 I.E.) - versetzt mit 10% AB-Serum (R10AB^+) resuspendiert und in der NEUBAUER-Zählkammer (Zeiss, Oberkochen) ausgezählt. Bei einer zusätzlichen Vitalitätsprüfung mit Trypanblau-Lösung lag der Anteil der toten Zellen stets unter 5%.

Anschließend wurden die Lymphozyten mit R10AB^+ auf die verschiedenen für die folgenden Versuche benötigten Zellkonzentrationen eingestellt.

Von jedem Probanden wurde mindestens einer, bei ausreichender Zellzahl mehrere der im weiteren beschriebenen Testansätze durchgeführt. Parallel zu jeweils ein oder zwei Patienten wurde stets eine Kontrollperson untersucht.

Lymphozytentransformationstest (LTT)

Als Ausgangskonzentration wurde für diese Versuche eine Zellzahl von 2×10^6 PBL/ml verwendet.

Die Tests wurden in Flachboden-Mikrotiterplatten (Falcon, Oxnard, USA) durchgeführt, sämtliche Ansätze erfolgten dabei in Triplikaten. Pro Kuhle wurden jeweils 50 μ l der Zellsuspension einpipettiert sowie 50 μ l Mitogen-Lösung in RO^+ ; zuletzt wurde mit dem Kulturmedium auf eine Endmenge von 0,2 ml/Kuhle aufgefüllt. Folgende Mitogene fanden im LTT Verwendung: Concanavalin A (Serva Feinbiochemica, Heidelberg) in den Endkonzentrationen Con A 10 μ g/ml, Con A 30 μ g/ml und Con A 50 μ g/ml sowie Phytohaemagglutinin (Wellcome Laboratories, Beckenham, England) in den Endkonzentrationen PHA 5 μ g/ml und PHA 10 μ g/ml. Zusätzlich wurden zur Bestimmung der spontanen Zellproliferation entsprechende Ansätze ohne Mitogen durchgeführt.

Anschließend wurden die Platten im Brutschrank bei 37°C und 5% CO_2 72 Stunden lang inkubiert. 18 Stunden vor dem Ende der Inkubationszeit wurde jedem Ansatz zur radioaktiven Markierung 1 μ Ci 3H -Thymidin (Radiochemical Centre, Amersham, England) in RO^+ zugegeben. Nach 72 Stunden wurden die Platten dem Brutschrank entnommen und die Zellen mit dem Titertek-Zellharvester (Skatron, Lierbyen, Norwegen) geerntet. Die Filterplättchen wurden dann in 2 ml Szintillationsflüssigkeit - 1% Luma Solve (Lumac Systems AG, Basel) in Aqua Luma plus (Lumac B.V., Holland) - gelöst und im Beta-Counter (LKB 1216 Rackbeta Liquid Scintillation Counter, LKB, Schweden) die in den Plättchen enthaltene Radioaktivität gemessen. Angegeben wurde dabei vom Rechner die Anzahl der radioaktiven Zerfälle pro Minute (disintegration per minute, dpm).

Con A-aktivierbare Suppressorzellen

(Methode modifiziert nach SHOU et al., 78)

Die über den Ficoll-Dichtegradienten gewonnenen PBL wurden mit R10AB^+ auf eine Zellkonzentration von $5 \times 10^6/\text{ml}$ eingestellt.

1 ml-Aliquots dieser Zellsuspension wurden in 15-ml-Kulturröhrchen (Falcon, Oxnard, USA) einpipettiert zusammen mit jeweils 1 ml Con A-Lösung in RO^+ . Zur Suppressorzell-induktion wurden dabei die Konzentrationen Con A $10 \mu\text{g}/\text{ml}$, Con A $30 \mu\text{g}/\text{ml}$ und Con A $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ verwendet (angegeben sind die jeweiligen Endkonzentrationen im Ansatz). Zusätzlich wurden Proben hergestellt, die statt der Mitogen-Lösung 1 ml Medium RO^+ enthielten; diese Zellen dienten im Folgenden als Kontrollzellen für die als potentielle Suppressorzellen wirkenden mit Con A aktivierten Zellen. Die verschiedenen Ansätze wurden anschließend 72 Stunden lang im Brutschrank (37°C , 5% CO_2) inkubiert.

Nach Ablauf der 3-tägigen Aktivierungsphase wurden die Zellen zunächst dreimal mit Hanks-Lösung gewaschen. Dabei wurde im ersten Waschgang die Hanks-Lösung zusätzlich mit 0,15 m Methyl-Alpha-D-Glucopyranosid (Serva Feinbiochemica, Heidelberg) versetzt und die Zellsuspension für 10 Minuten im Wasserbad (37°C) inkubiert. Auf diese Weise sollte sichergestellt werden, daß eventuell noch an die Zellen gebundenes Con A völlig entfernt wird.

Im Anschluß daran wurden die Zellen einer Mitomycin C-Behandlung unterzogen, um sie im nachfolgenden LIT als reine Stimulatorzellen ohne eigene Proliferationsfähigkeit auf Mitogene verwenden zu können. Dazu wurde mit RO^+ zunächst eine Konzentration von 1×10^6 Zellen/ml eingestellt und diese Zellsuspension dann nach Zugabe von 0,025 mg Mitomycin C/ml im Wasserbad (37°C) 30 Minuten lang inkubiert. (Untersuchungen von RICE et al. zufolge hat eine solche Behandlung keinen Einfluß auf die Aktivität der Con A-induzierten Suppressorzellen, 70).

Die Zellen wurden anschließend noch dreimal mit Hanks-Lösung gewaschen, in R10AB⁺ resuspendiert, in der NEUBAUER-Zählkammer ausgezählt und zuletzt mit R10AB⁺ auf eine Konzentration von 1×10^6 /ml eingestellt.

Ähnlich dem oben beschriebenen LTT wurde nun ein sogenannter Indikator-LTT angesetzt, in dem die Wirkung der Con A-aktivierten Suppressorzellen (Con A-Suppressorzellen) auf die mitogen-induzierte Proliferation allogener Zellen nachgewiesen werden sollte. Als allogene, sogenannte Responderzellen dienten dabei PBL eines jungen, gesunden Spenders, die nach der bereits dargestellten Separationsmethode über einen Ficoll-Dichtegradienten gewonnen und mit R10AB⁺ ebenfalls auf eine Konzentration von 1×10^6 Zellen/ml eingestellt wurden.

In Flachboden-Mikrotiterplatten wurden pro Kuhle 50 μ l dieser Responderzellsuspension einpipettiert, dazu jeweils 50 μ l der vorinkubierten Kontroll- bzw. Con A-Suppressorzellsuspensionen sowie 50 μ l Mitogen-Lösung in RO⁺. Verwendet wurden dabei wiederum Con A und PHA in den Endkonzentrationen Con A 10 μ g/ml, Con A 30 μ g/ml, Con A 50 μ g/ml, PHA 5 μ g/ml und PHA 10 μ g/ml. Zur Bestimmung der spontanen Zellproliferation dienten entsprechende Ansätze ohne Mitogen. Analog zu dem oben beschriebenen Vorgehen wurde jede Kuhle mit RO⁺ auf eine Endmenge von 0,2 ml aufgefüllt, die Platten dann im Brutschrank bei 37°C und 5% CO₂ inkubiert, nach 54 Stunden mit ³H-Thymidin markiert, nach 72 Stunden geerntet und schließlich im Beta-Counter die in die Zellkerne eingebaute Radioaktivität gemessen.

Prostaglandin-produzierende Suppressorzellen

Um eine Aussage über die Aktivität dieser Suppressorzellpopulation machen zu können, wurden im LTT weitere Ansätze durchgeführt, bei denen in die Kulturen zu PBL und Mitogen-Lösung zusätzlich Indometacin (Amuno^R) als Hemmstoff der Prostaglandinsynthese zugegeben wurde.

Nach der von GOODWIN et al. beschriebenen Arbeitsweise (32) wurde Indometacin (Sharp & Dohme GmbH, München) zunächst in einer Konzentration von 10 mg/ml in 95 %igem Äthylalkohol (Merck, Darmstadt) gelöst und dann mit RO⁺ auf die für die Versuche benötigte Konzentration weiterverdünnt. Diese wurde so gewählt, daß das Pharmakon in den Zellkulturen in einer Endverdünnung von 1 µg/ml vorlag, einer Konzentration, bei der eine optimale Steigerung der Proliferationsrate erreicht werden kann, und die auch bei einer Inkubationszeit von 72 Stunden keinen negativen Einfluß auf die Zellvitalität besitzt (32).

In die Flachboden-Mikrotiterplatten wurden dann jeweils 50 µl der Zellsuspension (PBL eingestellt auf 2×10^6 /ml), 50 µl Mitogen-Lösung in RO⁺ in den beschriebenen fünf verschiedenen Konzentrationen sowie 50 µl der Indometacin-Lösung einpipettiert. Parallel dazu wurden Kulturen ohne Mitogen zur Bestimmung der spontanen Zellproliferation angesetzt. Die einzelnen Proben wurden mit RO⁺ auf eine Endmenge von 0,2 ml/Kuhle aufgefüllt und die Platten im Anschluß daran 72 Stunden lang im Brutschrank bei 37°C und 5% CO₂ inkubiert. Das weitere Vorgehen erfolgte dann entsprechend dem bereits hinreichend dargelegten Verfahren.

Direkte Prostaglandinbestimmung

Zusätzlich zu dem indirekten Nachweis der Prostaglandin-produzierenden Suppressorzellen durch die Steigerung der Proliferationsrate im LTT nach Zugabe von Indometacin erfolgten weiterhin Untersuchungen, bei denen das in den Zellkulturen spontan bzw. nach Stimulation mit Mitogen gebildete Prostaglandin direkt gemessen wurde.

Als Ausgangskonzentration für die Versuche wurde eine Zellzahl von 3×10^6 PBL/ml verwendet.

Jeweils 1 ml dieser Zellsuspension wurde in 7,5-ml-Kulturröhrchen (Falcon, Oxnard, USA) einpipettiert, dazu außerdem entweder 1 ml Medium RO^+ , 1 ml PHA $5 \mu\text{g/ml}$ in RO^+ oder 1 ml PHA $10 \mu\text{g/ml}$ in RO^+ (angegeben als Endkonzentrationen). Sämtliche Ansätze wurden wiederum in Triplikaten durchgeführt. Die Proben ohne Mitogen zur Bestimmung der spontanen PG-Freisetzung wurden sofort bzw. nach einer Inkubationszeit (Brutschrank, 37°C , 5% CO_2) von 24 bzw. 48 Stunden weiterverarbeitet, die Ansätze mit PHA-Lösung nach einer Inkubationszeit von 24 bzw. 48 Stunden. Durch zweimaliges Abzentrifugieren der Zellen wurden jeweils die Überstände gewonnen und diese dann bis zur Prostaglandinbestimmung bei -70°C eingefroren.

Die Messung des in den Überständen enthaltenen Prostaglandins - bestimmt wurde Prostaglandin E ($E_1 + E_2$) - wurde freundlicherweise von Prof. Dr. med. D. Gerns in Heidelberg übernommen.

Auswertung

Die mitogen-induzierte Proliferation der PBL im LTT wurde in Δdpm angegeben, wobei sich Δdpm nach der Gleichung

$$\Delta\text{dpm} = \text{dpm}(\text{PBL} + \text{Mitogen}) - \text{dpm}(\text{PBL} + \text{RO}^+)$$

errechnet.

Die durch die Zugabe von Con A-Suppressorzellen erzielte prozentuale Suppression im Indikator-LTT wurde nach folgender Formel ermittelt:

$$\% \text{ Suppression} = 1 - \frac{\text{RS}^{\text{M}} - \text{RS}}{\text{RK}^{\text{M}} - \text{RK}} \times 100\%$$

mit RS^{M} = dpm (Responderzellen + mit Con A vorinkubierte, Mitomycin-behandelte Suppressorzellen + Mitogen), RS = dpm (Responderzellen + mit Con A vorinkubierte, Mitomycin-behandelte Suppressorzellen), RK^{M} = dpm (Responderzellen + ohne Con A vorinkubierte, Mitomycin-behandelte Kontrollzellen + Mitogen) und RK = dpm (Responderzellen + ohne Con A vorinkubierte, Mitomycin-behandelte Kontrollzellen).

Eine entsprechende Formel gilt auch für die prozentuale Steigerung der mitogen-induzierten Proliferation nach Zugabe von Indometacin zum LTT:

$$\% \text{ Steigerung} = 1 - \frac{\text{dpm}(\text{PBL} + \text{I} + \text{M}) - \text{dpm}(\text{PBL} + \text{I})}{\text{dpm}(\text{PBL} + \text{M}) - \text{dpm}(\text{PBL} + \text{RO}^+)} \times 100\%$$

mit I = Indometacin und M = Mitogen.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte nach dem WILCOXON-Test für unabhängige Stichproben (Rangsummen-Test), wobei für alle Untersuchungen $\alpha=0,05$ als Signifikanzgrenze festgelegt wurde.

Ergebnisse

Mitogen-induzierte Proliferation

Im LTT proliferieren PBL von Patienten mit kolorektalen Tumoren deutlich schlechter als PBL von gesunden Kontrollpersonen. In Abb. 1 sind die Einzelergebnisse für die verschiedenen Mitogen-Konzentrationen - ausgedrückt in Δdpm - einschließlich Mittelwerte $\pm$ Standardabweichungen graphisch dargestellt. Die durchschnittliche Proliferationsrate in der Kontrollgruppe liegt dabei stets wesentlich höher als die in der Gruppe der Patienten. Wie aus der Abbildung hervorgeht, ist dieser Unterschied bei den drei Con A-Konzentrationen sowie bei PHA 5 $\mu\text{g/ml}$ signifikant für $\alpha=0,05$ bzw. $\alpha=0,01$ (Abb. 1a-d); keine Signifikanz besteht dagegen bei Stimulation mit PHA 10 $\mu\text{g/ml}$ (Abb. 1e).

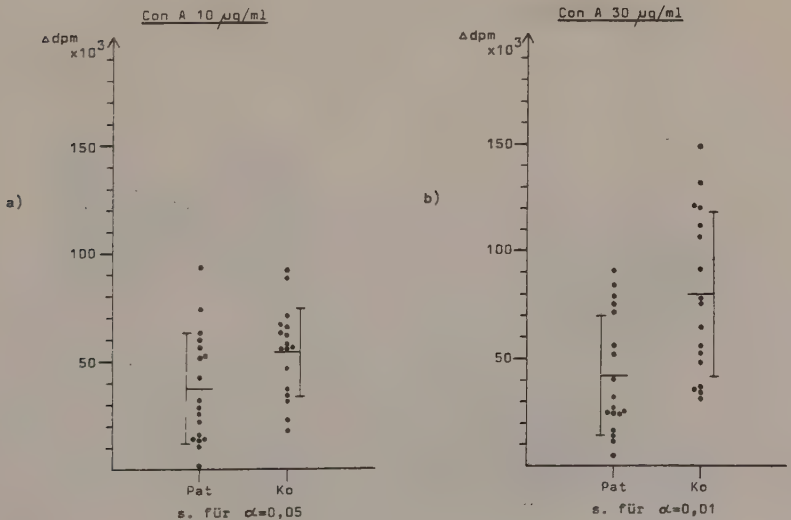


Abb. 1

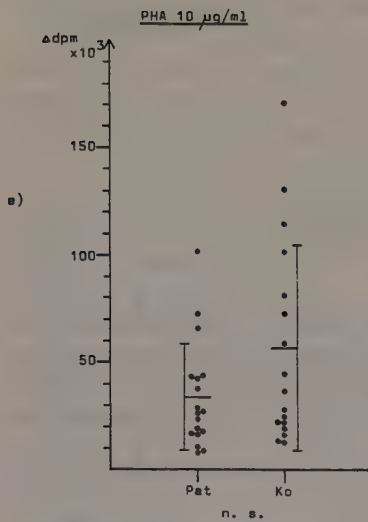
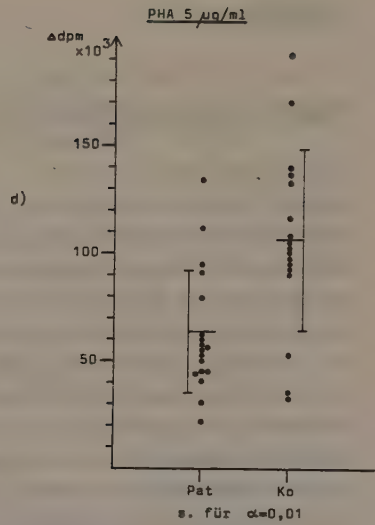
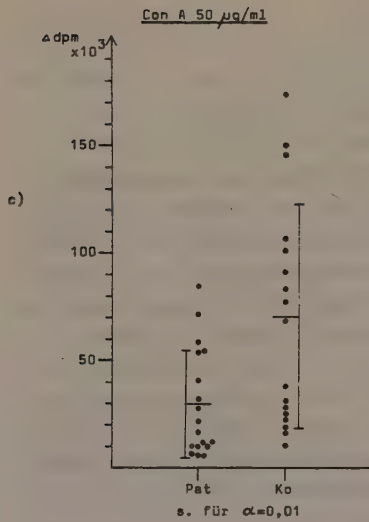


Abb. 1:
Mitogen-induzierte
Proliferation der
PBL von Patienten
(n=18) und Kontroll-
personen (n=17)

Altersabhängigkeit der Proliferationsrate

Da die beiden untersuchten Kollektive in ihrer Alterszusammensetzung stark differieren (vergl. Tab. 1), ergibt sich die Frage, ob die in Abb. 1 gezeigte geringere Proliferationsfähigkeit der PBL der Patienten möglicherweise auf den hohen Anteil 60- bis 70-jähriger in dieser Gruppe zurückgeführt werden kann. Es wurde deshalb untersucht, in wie weit für die Patientengruppe ein Zusammenhang besteht zwischen Lebensalter und Höhe der mitogen-induzierten Proliferationsrate Δ dpm. Abb. 2 zeigt am Beispiel der Stimulation mit Con A $30 \mu\text{g/ml}$, daß eine solche Korrelation nicht zu finden ist; entsprechendes gilt für die anderen verwendeten Mitogen-Konzentrationen. Die erniedrigten Werte für Δ dpm in der Gruppe der Patienten lassen sich also nicht mit einer "physiologischen" Abnahme der Proliferationsfähigkeit im Alter erklären.

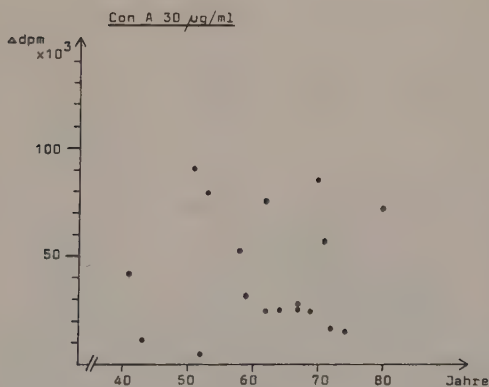


Abb. 2:
Altersabhängig-
keit der mitogen-
induzierten Pro-
liferationsrate

Proliferationsrate und Krankheitsparameter

Um die Vermutung zu erhärten, daß die bei den Patienten verminderte Proliferationsfähigkeit der PBL auf Mitogene in Verbindung mit dem Tumorgeschehen steht, wurde versucht, einen Zusammenhang zwischen den Werten von dpm und dem jeweiligen Krankheitsstadium der einzelnen Patienten nachzuweisen. Als Parameter hierfür wurde die bei kolorektalen Karzinomen allgemein gebräuchliche Einteilung nach dem DUKES-Schema verwendet. Entsprechend Abb. 1 wurden die Einzelergebnisse für die verschiedenen Mitogen-Konzentrationen sowie Mittelwerte $\pm$ Standardabweichungen der beiden untersuchten Kollektive verglichen, wobei die Patientengruppe jedoch zusätzlich nach den jeweiligen DUKES-Stadien aufgeschlüsselt ist. Wie aus Abb. 3 ersichtlich wird, besteht - insbesondere

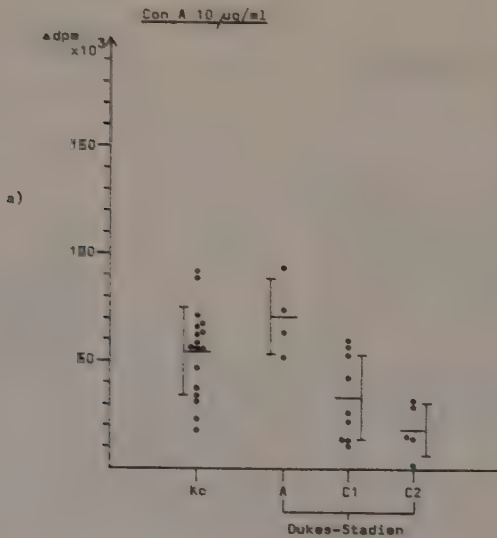


Abb. 3

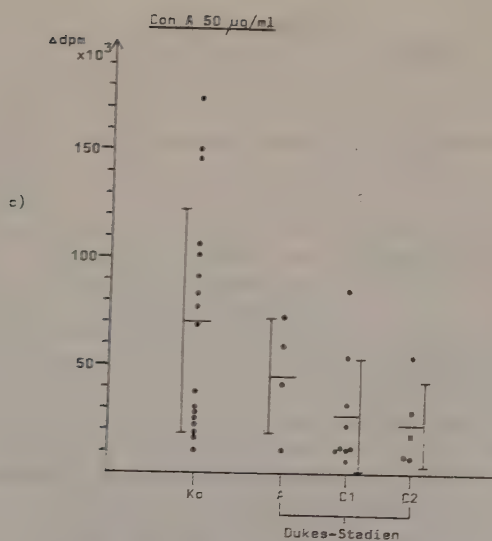
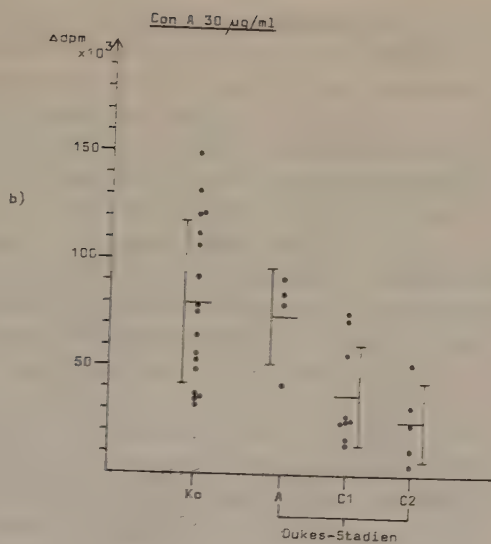


Abb. 3

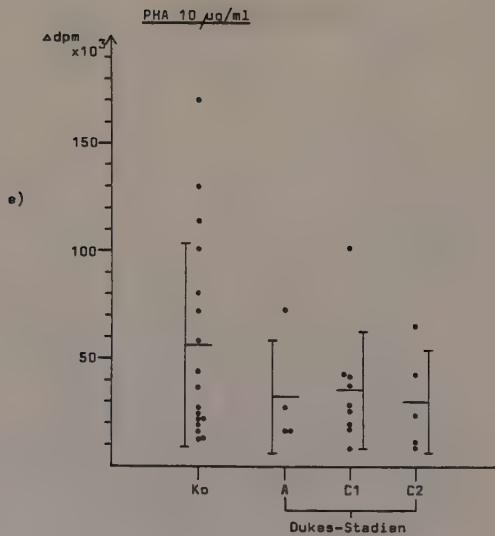
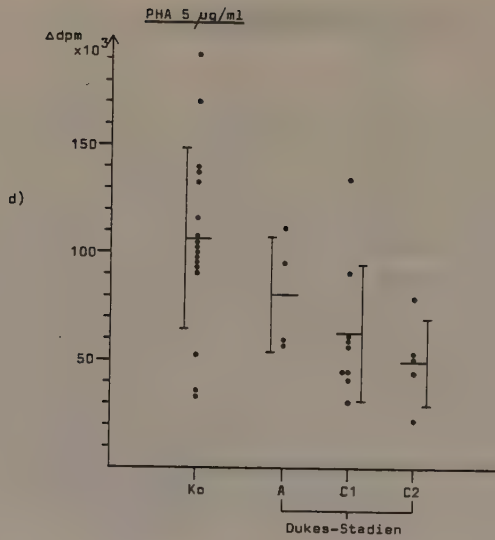


Abb. 3: Mitogen-induzierte Proliferation der PBL von Kontrollen (n=17) und Patienten, aufgeschlüsselt nach Tumorausbreitungsstadien DUKES A (n=4), DUKES C1 (n=9) und DUKES C2 (n=5)

bei den Con A-Konzentrationen $10 \mu\text{g/ml}$ und $30 \mu\text{g/ml}$ - eine deutliche Abhängigkeit der Proliferationsrate vom Stadium der Tumorausbreitung. Während Patienten mit Karzinomen des Stadiums DUKES A im Mittel mit der Kontrollgruppe vergleichbare Werte für Adpm aufweisen, ist in Fällen mit fortgeschrittenem Karzinomstadium DUKES C1 oder DUKES C2 die durchschnittliche Proliferation stark erniedrigt. In wieweit diese Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den verschiedenen Patientengruppen sowie zwischen den Patientengruppen untereinander bei den verwendeten Mitogen-Konzentrationen statistisch signifikant sind, geht aus Tab. 2 hervor.

Ein Zusammenhang zwischen der bei den Patienten reduzierten Proliferationsfähigkeit der PBL und der Höhe des Serum-CEA-Spiegels als weiterem Krankheitsparameter konnte nicht festgestellt werden.

	Con A $10 \mu\text{g/ml}$	Con A $30 \mu\text{g/ml}$	Con A $50 \mu\text{g/ml}$	PHA $5 \mu\text{g/ml}$	PHA $10 \mu\text{g/ml}$
Ko/A	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.
Ko/C1	$\alpha=0,02$	$\alpha=0,01$	$\alpha=0,02$	$\alpha=0,02$	n. s.
Ko/C2	$\alpha=0,01$	$\alpha=0,01$	$\alpha=0,05$	$\alpha=0,01$	n. s.
A/C1	$\alpha=0,02$	$\alpha=0,02$	n. s.	n. s.	n. s.
A/C2	$\alpha=0,02$	$\alpha=0,05$	n. s.	n. s.	n. s.
C1/C2	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.

Tab. 2: Signifikanzgrenzen für den Vergleich der in Abb. 3 dargestellten Kollektive

Con A-aktivierbare Suppressorzellen

Durch den umfangreichen Versuchsaufbau mit drei verschiedenen Con A-Konzentrationen zur Induktion der Suppressorzellen und fünf verschiedenen Mitogen-Konzentrationen im Indikator-LTT ergab sich bei der Bestimmung der individuellen Con A-Suppressorzellaktivität für jeden Probanden eine Vielzahl von Einzelergebnissen. Der besseren Übersichtlichkeit wegen sind deshalb in Tab. 3 die einzelnen Versuchsergebnisse für jeden der verschiedenen Testansätze bereits zusammengefaßt als durchschnittliche prozentuale Suppression (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichungen) in der jeweiligen untersuchten Personengruppe.

Aus der Tabelle und den darin angegebenen Standardabweichungen mit ihren zum Teil sehr hohen Werten läßt sich erkennen, daß die Schwankungsbreite der einzelnen Ergebnisse vielfach äußerst groß war. Die Werte bewegten sich dabei unter Umständen zwischen starker Suppression und deutlicher Steigerung der Proliferationsrate im Indikator-LTT. Um zu verhindern, daß diese Extremwerte das Bild verfälschen, wurde für die verschiedenen Versuchsansätze zusätzlich der unter solchen Bedingungen weniger anfällige und statistisch deshalb sicherere Medianwert x_M ermittelt. Die einzelnen Werte für x_M gehen ebenfalls aus Tab. 3 hervor.

Ein direkter Vergleich der beiden untersuchten Kollektive ist in Abb. 4 graphisch dargestellt (durchschnittliche prozentuale Suppression angegeben in Medianwerten x_M). Es wird deutlich, daß sich Patienten und Kontrollen in der Aktivität ihrer Con A-Suppressorzellen nicht voneinander unterscheiden. Die Suppressionsfähigkeit ist dabei zum größten Teil für beide Gruppen nahezu identisch; die gegenüber der Kontrollgruppe etwas erniedrigten Suppressionswerte der Patientengruppe in Abb. 4c (Aktivierung mit Con A 50 $\mu\text{g/ml}$) sind statistisch nicht signifikant.

a) Patienten

$\begin{matrix} ** \\ * \end{matrix}$	Con A 10 $\mu\text{g/ml}$	Con A 30 $\mu\text{g/ml}$	Con A 50 $\mu\text{g/ml}$	PHA 5 $\mu\text{g/ml}$	PHA 10 $\mu\text{g/ml}$
Con A 10 $\mu\text{g/ml}$	$32,5 \pm 17,8$ $x_M = 26,5$	$19,6 \pm 19,8$ $x_M = 15,9$	$15,0 \pm 18,9$ $x_M = 16,7$	$14,8 \pm 11,9$ $x_M = 14,4$	$0 \pm 22,5$ $x_M = 2,8$
Con A 30 $\mu\text{g/ml}$	$28,0 \pm 20,0$ $x_M = 33,6$	$11,6 \pm 29,0$ $x_M = 12,9$	$6,8 \pm 28,7$ $x_M = 13,5$	$8,2 \pm 20,4$ $x_M = 8,5$	$-22,6 \pm 56,3$ $x_M = -8,9$
Con A 50 $\mu\text{g/ml}$	$11,8 \pm 24,4$ $x_M = 17,9$	$6,7 \pm 28,9$ $x_M = 10,5$	$12,5 \pm 35,9$ $x_M = 19,9$	$-0,4 \pm 28,6$ $x_M = 5,9$	$6,5 \pm 36,5$ $x_M = 13,3$

* Mitogen-Konzentrationen zur Aktivierung der Suppressorzellen

** Mitogen-Konzentrationen im Indikator-LTT

b) Kontrollen

$\begin{matrix} ** \\ * \end{matrix}$	Con A 10 $\mu\text{g/ml}$	Con A 30 $\mu\text{g/ml}$	Con A 50 $\mu\text{g/ml}$	PHA 5 $\mu\text{g/ml}$	PHA 10 $\mu\text{g/ml}$
Con A 10 $\mu\text{g/ml}$	$26,6 \pm 34,3$ $x_M = 37,1$	$20,9 \pm 21,8$ $x_M = 22,6$	$-3,1 \pm 49,3$ $x_M = 11,3$	$5,5 \pm 21,7$ $x_M = 11,4$	$-2,7 \pm 32,4$ $x_M = 3,2$
Con A 30 $\mu\text{g/ml}$	$35,5 \pm 34,8$ $x_M = 43,1$	$21,1 \pm 17,9$ $x_M = 16,8$	$23,2 \pm 19,6$ $x_M = 22,2$	$3,5 \pm 27,9$ $x_M = 7,5$	$-21,6 \pm 46,2$ $x_M = -10,7$
Con A 50 $\mu\text{g/ml}$	$32,1 \pm 32,4$ $x_M = 38,9$	$30,4 \pm 15,5$ $x_M = 26,6$	$34,6 \pm 28,2$ $x_M = 37,8$	$8,5 \pm 22,6$ $x_M = 8,3$	$2,6 \pm 49,8$ $x_M = 22,5$

* Mitogen-Konzentrationen zur Aktivierung der Suppressorzellen

** Mitogen-Konzentrationen im Indikator-LTT

Tab. 3: Aktivität der Con A-Suppressorzellen von Patienten (n=15) und Kontrollen (n=14) in den verschiedenen Versuchsansätzen, angegeben in % Suppression (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichungen sowie Medianwerte x_M)

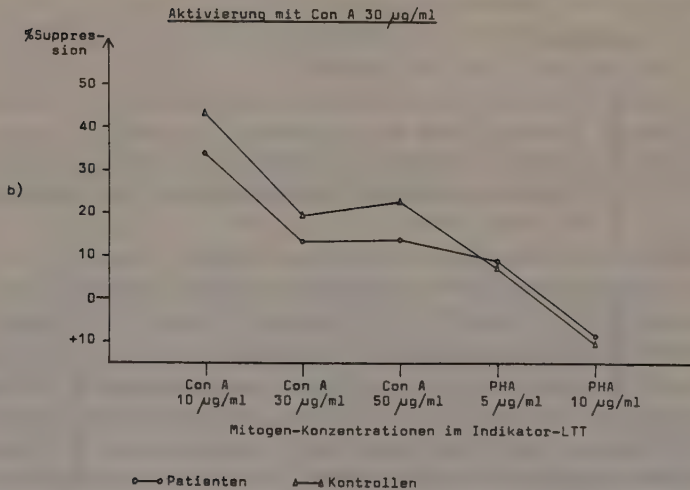
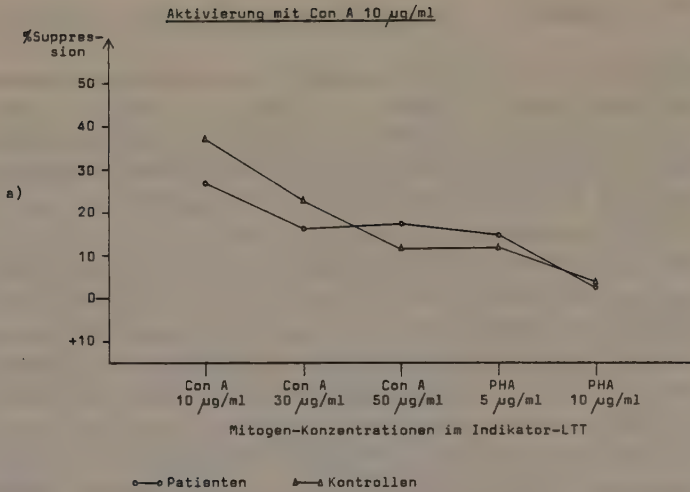


Abb. 4

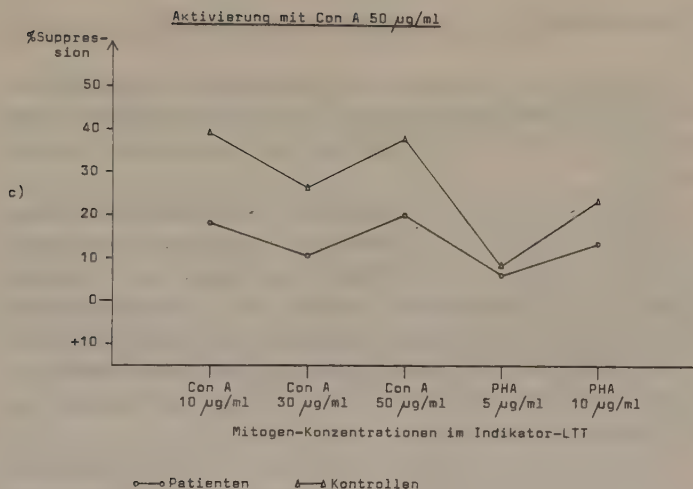


Abb. 4: Graphische Darstellung der Con A-Suppressorzell-aktivität von Patienten und Kontrollen (% Suppression angegeben in Medianwerten x_M der Tab. 3)

Als zusätzliches allgemeines Versuchsergebnis zur Aktivität der Con A-induzierten Suppressorzellen kann aus Tab. 3 und Abb. 4 die Beobachtung abgelesen werden, daß sich die Con A-Suppressorzellen besser mit den suboptimalen Konzentrationen Con A 10 $\mu\text{g/ml}$ und Con A 30 $\mu\text{g/ml}$ aktivieren lassen als mit der optimalen Konzentration Con A 50 $\mu\text{g/ml}$. Ausserdem wird deutlich, daß die induzierten Suppressorzellen ihre Wirkung dann besonders gut entfalten können, wenn im Indikator-LTT Con A als Mitogen zugegeben wird, wobei auch hier wiederum die suboptimalen Konzentrationen besser geeignet zu sein scheinen. Verwendet man dagegen PHA zur Stimulation der Responderzellen, treten Suppressionseffekte nur in sehr geringer Ausprägung auf.

Altersabhängigkeit der Con A-Suppressorzellen

Von Interesse war wiederum die Frage, ob die unterschiedliche Alterszusammensetzung der beiden untersuchten Personengruppen eventuell einen Einfluß auf die Versuchsergebnisse hat.

Da jedoch - wie bereits dargelegt - für jeden Probanden zahlreiche Einzelwerte vorlagen, die zudem teilweise ein sehr unterschiedliches Suppressionsverhalten in den verschiedenen Versuchsansätzen zeigten, war eine aussagefähige Korrelation nur schwer herzustellen. Es läßt sich nach den vorliegenden Daten aber vermuten, daß kein Zusammenhang zwischen der Aktivität der Con A-Suppressorzellen und dem Lebensalter besteht.

Con A-Suppressorzellen und Krankheitsparameter

Um trotz gleicher Kurvenverläufe in Abb. 4 möglicherweise doch vorhandene Unterschiede in der Suppressionsfähigkeit der Con A-aktivierten Zellen aufzudecken, wurde versucht, durch eine Aufschlüsselung der Patientengruppe nach den verschiedenen Tumorausbreitungsstadien entsprechend dem DUKES-Schema weitere Erkenntnisse zu gewinnen.

Es zeigten sich jedoch auch hier keinerlei auffällige Ergebnisse; in keinem Fall konnte ein gegenüber der Kontrollgruppe verändertes Verhalten der Con A-Suppressorzellen nachgewiesen werden.

Ebenso ließ sich kein Zusammenhang finden zwischen Suppressionsfähigkeit und Höhe des CEA-Spiegels im Patientenserum.

Prostaglandin-produzierende Suppressorzellen

Tab. 4 zeigt den prozentualen Anstieg der mitogen-induzierten Proliferationsrate nach Zugabe von Indometacin zum LTT, wobei auch hier die Einzelwerte der verschiedenen Versuchsansätze für jede der beiden untersuchten Personengruppen bereits zusammengefaßt sind als Mittelwerte $\pm$ Standardabweichungen. Es wird diesmal besonders deutlich, wie stark der Mittelwert durch einen einzelnen Fall extrem hoher Steigerung beeinflußt werden kann; aus den oben geschilderten Gründen wurden deshalb wiederum zusätzlich die Medianwerte x_M bestimmt und ebenfalls in der Tabelle angegeben.

Diese Medianwerte x_M der Tab. 4 sind in Abb. 5 außerdem nochmals graphisch aufgetragen, um einen direkten Vergleich der beiden untersuchten Kollektive zu erleichtern. Wie zu erkennen ist, besteht in der Aktivität der PG-produzierenden Suppressorzellen kein statistisch relevanter Unterschied zwischen Patienten und Kontrollen.

	Con A 10 $\mu\text{g/ml}$	Con A 30 $\mu\text{g/ml}$	Con A 50 $\mu\text{g/ml}$	PHA 5 $\mu\text{g/ml}$	PHA 10 $\mu\text{g/ml}$
Pat	79,0 $\pm$ 290 $x_M = 3,4$	38,3 $\pm$ 114 $x_M = 12,6$	33,1 $\pm$ 75,7 $x_M = 15,2$	9,0 $\pm$ 31,5 $x_M = 14,7$	13,1 $\pm$ 44,4 $x_M = 3,3$
Ko	12,3 $\pm$ 20,8 $x_M = 6,2$	10,0 $\pm$ 23,4 $x_M = 6,4$	5,8 $\pm$ 35,9 $x_M = 5,9$	-2,3 $\pm$ 20,2 $x_M = -2,0$	-3,6 $\pm$ 35,3 $x_M = -2,2$

Tab. 4: Durchschnittliche prozentuale Steigerung der Proliferationsrate nach Indometacin-Zugabe zum LTT (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichungen sowie Medianwerte x_M) für Patienten (n=18) und Kontrollen (n=17)

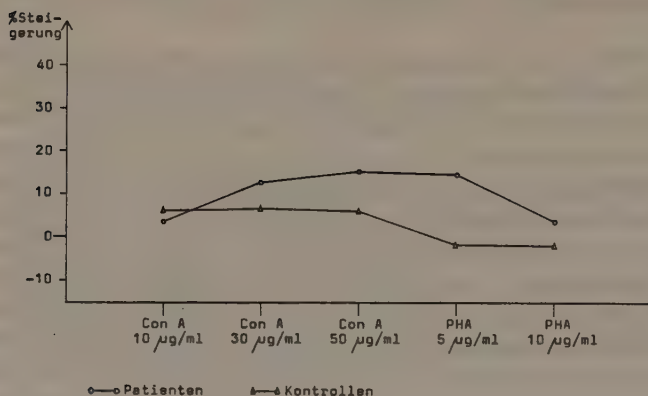


Abb. 5: Direkter Vergleich der Aktivität der PG-produzierenden Suppressorzellen von Patienten und Kontrollen (% Steigerung angegeben in Medianwerten x_M der Tab. 4)

Auch eine graphische Darstellung der Indometacin-Wirkung ausgedrückt nicht als prozentuale Steigerung der Proliferationsrate, sondern als Änderung der absoluten Werte von Δdpm (in Abb. 6 gezeigt am Beispiel der Stimulation mit Con A 30 µg/ml) ergibt keine Auffälligkeiten. Wie aus der Abbildung hervorgeht, ist die Reaktion auf das Pharmakon bei den einzelnen Probanden sehr variabel - die gemessenen Werte schwanken zwischen deutlicher Steigerung und Suppression -, ohne daß sich das Verhalten der Patienten-PBL wesentlich von dem der Lymphozyten der Kontrollpersonen unterscheidet.

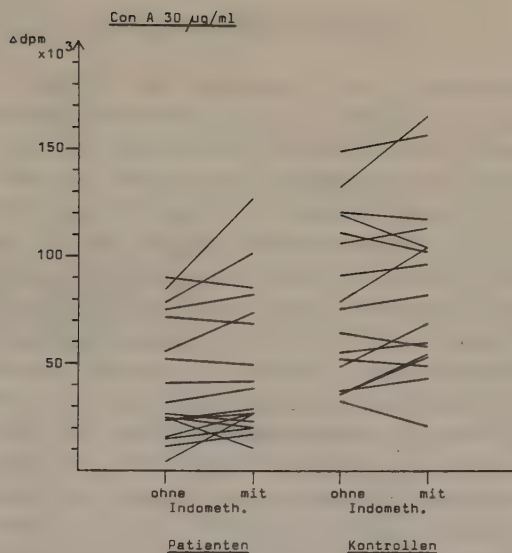


Abb. 6:
Indometacin-
Wirkung im LTT,
dargestellt in
Absolutwerten
von Δdpm

Altersabhängigkeit der PG-Suppressorzellen

Auch in diesem Fall war wieder zu prüfen, ob die vorliegenden Ergebnisse möglicherweise durch die unterschiedliche Alterszusammensetzung der beiden untersuchten Kollektive beeinflusst sind.

Aus Abb. 7 wird ersichtlich, daß sich keine Korrelation zwischen der Aktivität der Prostaglandin-produzierenden Suppressorzellen und dem Lebensalter der Patienten herstellen läßt. Die in der Abbildung am Beispiel der Stimulation mit Con A 30 $\mu\text{g/ml}$ dargestellte Werteverteilung gilt in ähnlicher Weise auch für die anderen verwendeten Mitogen-Konzentrationen.

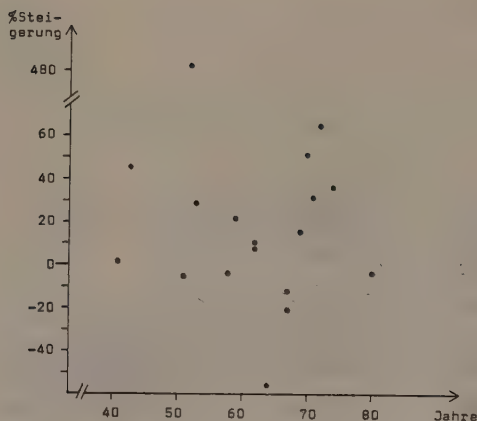


Abb. 7:
Altersabhängigkeit
der Aktivität der
PG-produzierenden
Suppressorzellen

PG-Suppressorzellen und Krankheitsparameter

Eine Differenzierung der Patienten nach ihrem jeweiligen Tumorausbreitungsstadium erbrachte ebenfalls keine neuen Erkenntnisse hinsichtlich der PG-Suppressorzellaktivität; es finden sich in der prozentualen Steigerung der Proliferationsrate auf Indometacin-Zugabe zum LTT keinerlei Unterschiede zwischen den verschiedenen Patientengruppen und den Kontrollpersonen.

Entsprechendes gilt für die versuchte Korrelation der PG-Suppressorzellaktivität mit der Höhe des CEA-Spiegels im Patientenserum.

Direkte Prostaglandinbestimmung

Betrachtet man zunächst in Abb. 8 die spontane PG-Freisetzung der PBL, so ist zu erkennen, daß die Prostaglandinmenge bei fast allen Probanden von einem Sofortwert nahe Null nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden auf Durchschnittswerte von etwa 10 ng/ml PGE ansteigt. Nach 48 Stunden ist dann meist noch ein weiterer leichter Anstieg zu finden, teilweise sistiert die PG-Produktion, in einigen Fällen sinkt der Wert wieder etwas ab. Dabei betreffen die beschriebenen Vorgänge beide Personengruppen in gleicher Weise; es läßt sich kein Unterschied zwischen Patienten und Kontrollen feststellen.

Auch für die PG-Freisetzung der PBL nach Stimulation mit dem Mitogen PHA besteht keine wesentliche Differenz zwischen den beiden untersuchten Kollektiven. In Abb. 9 sind dabei die nach 24-stündiger Inkubationszeit bestimmten PG-Werte dargestellt; ein ähnliches Ergebnis kann auch aus den am Tag II gewonnenen Daten abgelesen werden. Aus der Abbildung geht hervor, daß erstaunlicherweise in der Mehrzahl der Fälle die von den PBL produzierte PG-Menge nach Zugabe von PHA absinkt. Vergleicht man weiterhin die PG-Freisetzung bei den beiden verschiedenen Mitogen-Konzentrationen, so wird deutlich, daß hier die Ergebnisse sehr variabel sind. Abhängig vom Einzelfall liegen die Werte bei Verwendung von PHA 10 µg/ml niedriger, gleich hoch oder höher als bei Stimulation mit PHA 5 µg/ml.

Erwähnt werden muß in diesem Zusammenhang speziell noch das Verhalten der Patienten-PBL (Abb. 9a). Ausgehend von einer sehr unterschiedlich hohen spontanen PG-Freisetzung sinkt hier die Produktion nach Mitogen-Zugabe in nahezu allen Fällen stark auf Werte unter 10 ng/ml PGE ab, während bei den Kontrollpersonen die Streubreite der Ergebnisse wesentlich größer ist. Eine Erklärung für dieses Phänomen konnte im Rahmen der hier durchgeführten Untersuchungen jedoch nicht gefunden werden.

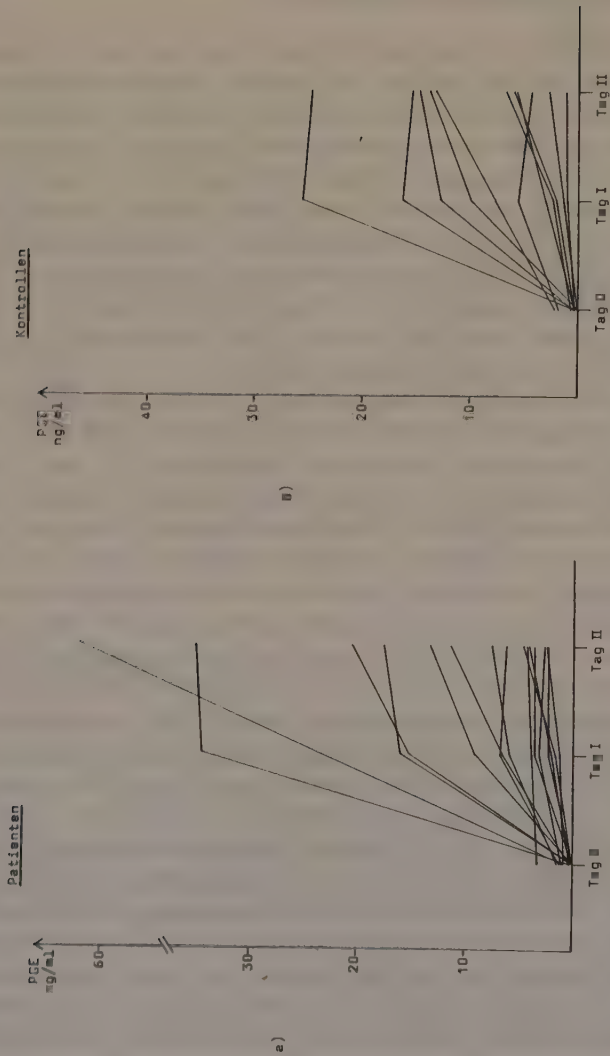


Abb. 8: Spontane Prostaglandinfreisetzung der PBL von Patienten (n=15) und Kontrollen (n=11) nach einer Inkubationszeit von 24 bzw. 48 Stunden

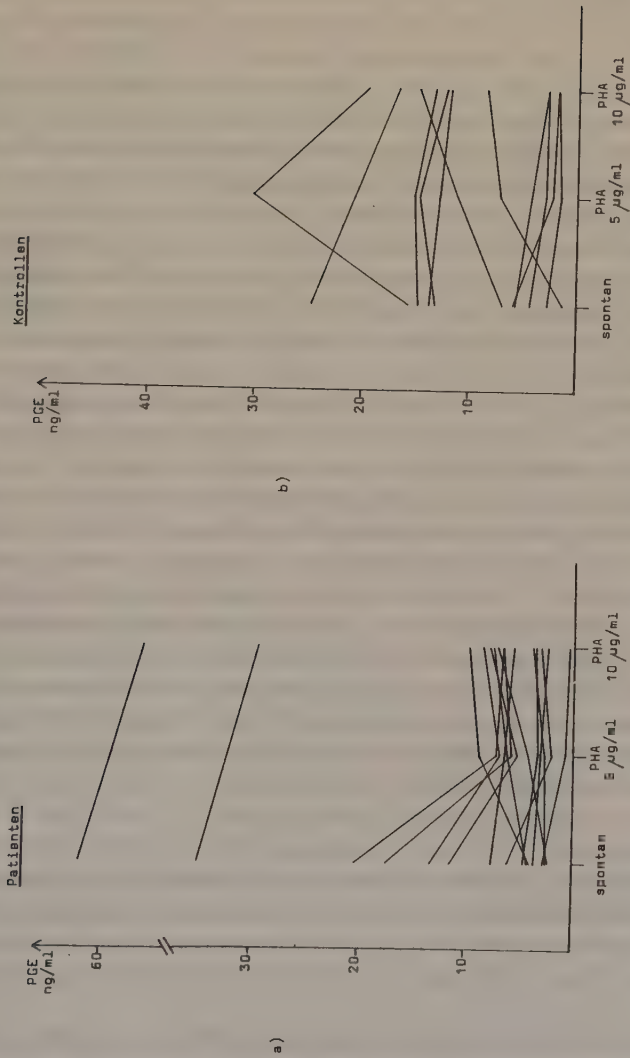


Abb. 9: Mitogen-induzierte Prostaglandinfreisetzung der PBL von Patienten (n=15) und Kontrollen (n=11) nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden

Diskussion

Will man verschiedene Erkrankungen unter dem Gesichtspunkt eines von der Norm abweichenden Verhaltens ihrer Suppressorzellaktivität untersuchen, so steht an erster Stelle die Überlegung, welche Veränderungen dabei unter Umständen erwartet werden können.

Von theoretischen Betrachtungen ausgehend kann man postulieren, daß eine verminderte Aktivität von Suppressorzellen immer dann gefunden wird, wenn maligne Veränderungen des lymphoretikulären Systems (31) oder Autoaggressionskrankheiten (4,73,95) vorliegen. In diesen Fällen entsteht ohne die adäquate Regulation durch suppressiv wirkende Faktoren eine unkontrollierte Proliferation der verschiedenen immunologisch kompetenten Zellen, wodurch die Wahrscheinlichkeit fehlerhafter Reaktionen steigt (31). Umgekehrt läßt sich bei anderen Erkrankungen - z.B. bei chronischen Infektionskrankheiten, insbesondere aber auch bei Malignomen - vermuten, daß eine gesteigerte Suppressorzellaktivität besteht, die ein regelrechtes Verhalten der zellulären und humoralen Abwehrmechanismen verhindert (4). Legt man diese Vorstellung zugrunde, so ist Tumorstadium bzw. -regression bedingt durch das Gleichgewicht zwischen zytotoxischer und suppressiver Aktivität der T-Zellen gegenüber den Tumor-Antigenen (73).

Ausgehend von diesen Überlegungen sollte in der vorliegenden Arbeit untersucht werden, in wieweit diese für maligne Krankheitsbilder postulierten gestörten Suppressorzellfunktionen speziell auch bei Tumoren von Kolon und Rektum eine Rolle spielen.

Die dabei auftretende grundlegende Frage, ob eine veränderte Aktivität von Suppressorzellen als Ursache der Malignomentstehung anzusehen ist oder vielmehr ein sekun-

däres Symptom des Tumorgeschehens darstellt (1), kann in diesem Zusammenhang nicht beantwortet werden und bleibt bei den folgenden Überlegungen unberücksichtigt.

Die hier durchgeführten Versuche zeigen zunächst, daß die Lymphozyten der Karzinompatienten im LTT signifikant schlechter proliferieren als die Zellen der Kontrollpersonen (Abb. 1).

Es stellt sich allerdings die Frage, ob diese verminderte Proliferationsfähigkeit tatsächlich auf das Krankheitsgeschehen zurückzuführen ist, oder ob andere Gründe für dieses Ergebnis verantwortlich gemacht werden müssen. Als Erklärung käme dabei vor allem die unterschiedliche Alterszusammensetzung der beiden untersuchten Personengruppen in Betracht. Diese Vermutung wird gestützt durch Berichte einiger Autoren, nach denen die mitogen-induzierte Proliferationsrate bei gesunden Probanden höheren Alters gegenüber den bei jungen Spendern gefundenen Werten deutlich reduziert ist (6,35,46,86).

Andererseits läßt sich, wie Abb. 2 zeigt, zumindest in den vorliegenden Fällen eine solche Abhängigkeit der ^3H -Thymidin-Einbaurate vom Lebensalter nicht beobachten. Für eine Verbindung mit dem Krankheitsgeschehen spricht weiterhin die Tatsache, daß ein Zusammenhang zwischen Proliferationsfähigkeit und Ausbreitungsstadium des Tumors zu finden ist (Abb. 3, Tab. 2). Nicht zuletzt decken sich die hier gemachten Beobachtungen mit zahlreichen anderen Untersuchungen, die ebenfalls eine erniedrigte mitogen-induzierte Proliferationsrate bei kolorektalen Karzinomen (51) sowie bei einer Vielzahl anderer Malignome nachweisen konnten (8,13,44,89,93,102).

Als Ursache für die herabgesetzte Proliferationsfähigkeit der Patienten-PBL kommen mehrere unterschiedliche Faktoren in Frage, wobei jedoch nicht unerwähnt bleiben soll,

daß die meisten dieser Mechanismen auch zur Erklärung einer altersbedingt erniedrigten Proliferationsrate herangezogen werden.

Verantwortlich könnte einerseits eine reduzierte Anzahl an durch Mitogene stimulierbaren Lymphozyten im LTT sein (46), bedingt möglicherweise durch eine relative Verminderung der T_H -Zellen zugunsten der nicht zur Proliferation fähigen T_X -Subpopulation (8,91).

Interessant sind im Hinblick auf die hier untersuchte Problematik andererseits insbesondere Befunde, die eine Wirkung von Suppressorzellen vermuten lassen. In Betracht zu ziehen sind hauptsächlich Suppressor-Makrophagen (86), suppressive Effekte von Monozyten (102) sowie die Con A-aktivierbaren (8) und die Prostaglandin-produzierenden Suppressorzellen (32-35).

Hinsichtlich der Bedeutung der beiden letztgenannten Faktoren lassen sich dabei im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen nähere Aussagen machen. Legt man die im Weiteren noch zu diskutierenden Ergebnisse zugrunde, so muß angenommen werden, daß keine dieser beiden Suppressorzellpopulationen einen wesentlichen Einfluß auf die mitogen-induzierte Proliferation besitzt.

Wie in Tab. 3 und Abb. 4 ausführlich dargestellt, besteht zwischen den Tumorpatienten und den gesunden Kontrollpersonen kein Unterschied in der Aktivität ihrer Con A-Suppressorzellen.

Berücksichtigt man die Tatsache, daß dies im Widerspruch zu den eingangs geschilderten theoretischen Überlegungen steht, ließe sich daran denken, daß die hier durchgeführten Versuche in ihrer Aussagekraft unzureichend waren und dadurch zu fehlerhaften Ergebnissen führten.

Ein Grund dafür könnte eventuell wiederum darin zu suchen sein, daß die beiden Personengruppen in ihrer Alterszu-

sammensetzung stark differieren. Ob dieser Faktor für die Con A-Suppressorzellen eine Rolle spielt, ist weitgehend ungeklärt.

Die Aktivierbarkeit von Suppressorzellen durch Con A scheint bei Neugeborenen und Kleinkindern zunächst vollständig zu fehlen und erreicht erst etwa ab dem vierten Lebensjahr die bei Erwachsenen gefundenen Werte (61); in welcher Weise sie sich im höheren Lebensalter verändert, ist umstritten. So gibt es Befunde, die eine Aktivitätssteigerung beschreiben (2), andere Autoren berichten über eine herabgesetzte Aktivität im Alter (38, 50), teilweise wird eine Altersabhängigkeit auch abgelehnt (13,70). Eine mögliche Erklärung für die Diskrepanz dieser Ergebnisse läßt sich in der Tatsache finden, daß bei den verschiedenen Untersuchungen teils im autologen, teils im allogenen System gearbeitet wurde (74). Dabei liegt im autologen Testsystem ein zusätzlicher Unsicherheitsfaktor darin, daß erhöhte Suppressionswerte im Indikator-LTT nicht unbedingt auf eine gesteigerte Suppressorzellaktivität zurückgeführt werden müssen, sondern auch durch eine bei älteren Probanden vermehrte Empfindlichkeit der Responderzellen gegenüber suppressiven Einflüssen hervorgerufen sein können (3).

In Verbindung mit den hier beschriebenen Ergebnissen wäre die Vorstellung einer verminderten Aktivität der Con A-Suppressorzellen von besonderem Interesse. Es ließe sich dann die Hypothese aufstellen, daß die bei den Patienten altersbedingt zu erwartende herabgesetzte Suppressionsfähigkeit durch eine auf Grund des Tumorgeschehens erhöhte Aktivität kompensiert wird.

Zwar wurde in der vorliegenden Arbeit ein Zusammenhang zwischen suppressiver Wirkung und Lebensalter nicht gefunden, er ist jedoch auch nicht völlig auszuschließen (s.S.26). Weitere vergleichende Untersuchungen mit altersentsprechenden Kontrollpersonen sind zur Klärung dieses Problems daher sicher notwendig.

Im Hinblick auf den Versuchsaufbau ist weiterhin zu Überlegen, ob die zur Suppressorzellinduktion verwendeten Con A-Konzentrationen geeignet waren, und ob die im Indikator-LTT eingesetzten Zellzahlen aussagekräftig sind. Auch zu diesen Fragestellungen gibt es in der Literatur keine einheitliche Meinung.

Aus den hier gewonnenen Daten geht hervor, daß jeder Proband hinsichtlich der zur Aktivierung seiner Suppressorzellen benötigten Con A-Konzentration sein persönliches Optimum besitzt. Insgesamt gesehen lassen sich suppressive Effekte jedoch wohl besser durch die suboptimalen Konzentrationen Con A 10 $\mu\text{g/ml}$ und Con A 30 $\mu\text{g/ml}$ erzielen als durch Con A 50 $\mu\text{g/ml}$ (Abb. 4). Diese Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen von SMITH und SVEJGAARD überein, die ebenfalls höhere Suppressionswerte bei Verwendung suboptimaler Con A-Konzentrationen beschreiben (79). Anderen Autoren zufolge läßt sich dagegen eine gute Suppression lediglich durch hohe Mitogen-Konzentrationen induzieren, während suboptimale Con A-Konzentrationen teilweise überhaupt keine Wirkung zeigen (25,38).

Diskutiert werden muß in Verbindung mit dem Problem der Suppressorzellaktivierung auch der Befund, daß die zur Erreichung maximaler Suppression notwendige Inkubationszeit individuell, unter Umständen altersabhängig, verschieden ist (50).

Welche Rolle die im Indikator-LTT eingesetzten Zell-Konzentrationen spielen, ist ebenfalls umstritten. Von ANTEL et al. wird dem zahlenmäßigen Verhältnis Suppressor-/Responderzellen eine wesentliche Bedeutung für die zu erzielenden Suppressionswerte beigemessen (2); es liegen umgekehrt jedoch auch Berichte vor, nach denen ein solcher Einfluß weitgehend abgelehnt wird (79).

Die Tatsache, daß die Induktion von Suppressorzellen nur einen Teilaspekt der Inkubation mit Con A darstellt (20), ist zusätzlich mit in die Überlegungen einzubeziehen. So

werden im Ansatz sowohl Suppressor- als auch Helferzellen aktiviert (53,60), eventuell auch mehrere Suppressorzellpopulationen gleichzeitig (41,57). Zudem muß in diesem Zusammenhang noch auf die von DWYER und JOHNSON gemachte Beobachtung hingewiesen werden, daß sich in einem Kollektiv gesunder Probanden in ca. 15% der Fälle durch Con A überhaupt keine Suppressorzellen induzieren lassen (20).

Weiterhin trägt zur Problematik bei, daß die im sekundären LTT gemessene Suppressorzellaktivität stark abhängig ist von den jeweiligen Indikatorzellen im System (38). Es ist anzunehmen, daß die Wechselwirkungen zwischen Suppressor- und Responderzellen zahlreichen verschiedenen Einflüssen unterliegen, die aller Wahrscheinlichkeit nach interindividuell sehr variabel sind (3). Zumindest dieser die Versuchsbedingungen störende Faktor ließe sich bei künftigen Untersuchungen durch Verwendung einer Zelllinie im Indikator-LTT gut vermeiden.

Von besonderem Interesse ist in Verbindung mit der Diskussion eines möglicherweise falsch negativen Ergebnisses schließlich die Anwesenheit spontaner Suppressorzellen in der Kultur (21). Entfalten die im Indikator-LTT als Kontrollzellen eingesetzten, nur mit Medium vorinkubierten PBL durch die Aktivität dieser Zellpopulation selbst eine suppressive Wirkung, so erscheinen die durch den Vergleich Con A-Suppressor-/Kontrollzellen ermittelten Suppressionswerte geringer als es den tatsächlichen Gegebenheiten entspricht (20).

Nach einer Vorinkubationszeit von 72 Stunden dürfte ein solcher Einfluß spontaner Suppressorzellen im allgemeinen bereits sehr gering sein (20), es ist aber nicht völlig auszuschließen, daß er individuell verschieden - eventuell bei Tumorpatienten verstärkt - noch eine Rolle spielt.

Ausgehend von dieser Vorstellung ließe sich dann folgern, daß bei den Patienten zwar eine gegenüber den Kontrollpersonen erhöhte Aktivität der Con A-Suppressorzellen vorhanden ist, diese jedoch auf Grund einer bei ihnen ebenfalls gesteigerten Spontansuppression nicht zum Ausdruck kommt.

Gestützt wird diese Hypothese durch erst vor kurzem abgeschlossene Untersuchungen, die zeigen konnten, daß Patienten mit kolorektalen Tumoren im Vergleich zu einer altersentsprechenden Kontrollgruppe eine vermehrte Aktivität spontaner Suppressorzellen aufweisen (16).

Zusammenfassend muß gesagt werden, daß Induktion und Wirkungsmechanismus der Con A-Suppressorzellen sicher von einer Vielzahl unterschiedlicher Faktoren beeinflusst sind und ein fehlerhaftes Versuchsergebnis daher durchaus im Bereich des Möglichen liegt.

Andererseits gibt es Arbeiten, die die hier zur Aktivität der Con A-Suppressorzellen gewonnenen Daten bestätigen. So fanden VANHAELEN und FISHER bei M. Hodgkin (90) und WERKMEISTER et al. bei Patienten mit malignem Melanom (98) ebenfalls ein nicht von der Norm abweichendes Verhalten dieser Zellpopulation.

Interessant sind dabei vor allem weitere in diesem Zusammenhang erhobene Befunde, die einen völlig neuen, in der Diskussion bisher nicht berücksichtigten Aspekt aufzeigen. So ließ sich zusätzlich nachweisen, daß die Karzinompatienten zwar selbst keine veränderte Con A-Suppressorzellaktivität besitzen, ihre Lymphozyten jedoch verstärkt durch Con A-Suppressorzellen gesunder Spender supprimierbar sind (90).

Ein in dieser Richtung entsprechend modifizierter Versuchsansatz könnte in Zukunft möglicherweise auch für den Problembereich der kolorektalen Tumoren umfassende neue Erkenntnisse liefern.

Erwähnt werden müssen allerdings an dieser Stelle auch Berichte über eine Änderung der Con A-Suppressorzellfunktion bei malignen Erkrankungen. Mit der eingangs für diese Krankheitsbilder postulierten Aktivitätserhöhung stimmen dabei die Untersuchungen von TOGE et al. an Patienten mit Karzinomen des Magens überein, wobei jedoch die Veränderungen lediglich in Fällen mit weit fortgeschrittenen Tumorstadien auftreten (85). Unerwartet ist dagegen zunächst eine u.a. bei kolorektalen Tumoren beschriebene erniedrigte Suppressionsfähigkeit (8,44). Eine Erklärung für diesen Befund läßt sich aber unter Umständen in der Beobachtung finden, daß bei verschiedenen metastasierenden Malignomen eine verminderte Con A-Suppressorzellaktivität bei gleichzeitiger Aktivitätssteigerung der PG-produzierenden Suppressorzellen vorliegt (48).

Diese unterschiedlichen, sich teilweise stark widersprechenden Versuchsergebnisse weisen insgesamt darauf hin, daß die Population der Con A-induzierten Suppressorzellen ein sehr komplexes und von vielen unbekannten Parametern beeinflusstes System darstellt. So konnten schließlich Überlegungen nicht ausbleiben, die die Existenz der durch Con A aktivierbaren Suppressorzellen von Grund auf anzweifeln und die gemessenen Suppressionswerte für ein versuchstechnisches Artefakt halten (23). Will man dieser Ansicht nicht folgen, so ist doch festzustellen, daß es durchaus fraglich erscheinen muß, ob sich die auftretenden Mechanismen und Wechselwirkungen durch den allgemein verwendeten, relativ einfachen Versuchsansatz (78) adäquat nachvollziehen lassen.

Ähnliche Einschränkungen gelten sicher auch für das im Folgenden zu besprechende System der Prostaglandin-produzierenden Suppressorzellen. Aus den hier vorliegenden

Daten (Tab. 4, Abb. 5, Abb. 6) wird ersichtlich, daß für diese Zellpopulation ebenfalls kein Aktivitätsunterschied zwischen Patienten und Kontrollpersonen gefunden werden konnte.

Vergleichbare Untersuchungen über die PG-Suppressorzellen liegen bislang in der Literatur kaum vor; bekannt ist lediglich eine erhöhte Aktivität bei M. Hodgkin (33) sowie bei Patienten mit rheumatoider Arthritis (101). Berichtet wird außerdem über eine gesteigerte Suppressionsfähigkeit bei gesunden Spendern höheren Lebensalters (35, 70), wobei diese unter Umständen bedingt ist durch eine vermehrte Sensitivität der PBL dieser Probanden gegenüber der suppressiven Wirkung der Prostaglandine (35) - ein Aspekt, dessen Bedeutung bereits bei der Diskussion der Con A-Suppressorzellen angesprochen wurde. In der vorliegenden Arbeit ließ sich jedoch im Gegensatz dazu eine solche Altersabhängigkeit der PG-Suppressorzellaktivität nicht beobachten (Abb. 7).

Von Interesse sind in Verbindung mit den beschriebenen Versuchsergebnissen aber eventuell andere Befunde, nach denen sich die Wirkung der PG-produzierenden Suppressorzellen umso deutlicher darstellt, je niedriger die im LTT eingesetzte PHA-Konzentration liegt (34). Dabei muß zusätzlich die Möglichkeit in Erwägung gezogen werden, daß eine krankheitsbedingt veränderte Suppressionsfähigkeit nur bei suboptimalen Mitogen-Konzentrationen sichtbar wird, während sie bei hohen Konzentrationen nicht zum Ausdruck kommt (34).

Legt man diese Vorstellung zugrunde, so ist zu vermuten, daß die bei den hier durchgeführten Untersuchungen verwendeten PHA-Konzentrationen für den Nachweis einer erhöhten Suppressorzellaktivität nicht geeignet waren.

Erschwert werden gültige Aussagen weiterhin auch durch die zwangsläufig auftretenden Wechselwirkungen der PG-

produzierenden Suppressorzellen mit anderen Zellpopulationen; postuliert wird in diesem Zusammenhang z.8. ein Gleichgewicht zwischen PG-Suppression und von Monozyten vermittelten Helfereffekten (33). Noch wesentlich umfassender betrachten STOBO et al. dieses Problem; sie gehen davon aus, daß die Prostaglandine selbst nicht nur Suppressor- sondern gleichzeitig auch Helferfunktionen besitzen und ihnen damit eine entscheidende Bedeutung als Regulatoren immunologischer Vorgänge zukommt (82).

Ein weiterer Unsicherheitsfaktor des Versuchsansatzes liegt in der Frage, welche Wirkung das in den Zellkulturen eingesetzte Indometacin ausübt. Außer Zweifel steht dabei zunächst, daß das Pharmakon in höheren Konzentrationen in der Lage ist, die mitogen-induzierte Proliferation zu hemmen (28,65). Nach GOODWIN et al. wird ein solcher Effekt bei einer Konzentration von $1 \mu\text{g/ml}$ zwar nicht beobachtet (32), es ist jedoch nicht auszuschließen, daß auch bei dieser starken Verdünnung der Substanz noch eine gewisse toxische Komponente besteht, die eventuell - berücksichtigt man die Möglichkeit einer erhöhten Sensitivität der Patienten-PBL - die Zellen der Probanden in unterschiedlicher Ausprägung beeinflusst. Ausgehend von dieser Überlegung müßte angenommen werden, daß die Indometacin-Wirkung im LTT nicht ausschließlich auf einer Hemmung der Prostaglandinsynthese beruht, wodurch insgesamt die Aussagekraft dieses Testsystems als Indikator für die PG-Suppressorzellaktivität deutlich eingeschränkt würde.

Die im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen zusätzlich durchgeführte direkte Prostaglandinbestimmung erbrachte ebenfalls keine neuen Erkenntnisse zur Problematik der PG-Suppressorzellen. Wie aus Abb. 8 und Abb. 9 hervorgeht, differieren die für Patienten und Kontrollpersonen gemessenen PG-Werte kaum.

Ergebnisse zu diesem Fragenkreis finden sich in der Literatur einmal für Patienten mit M. Hodgkin; in diesen Fällen konnte eine gegenüber gesunden Kontrollpersonen mehrfach gesteigerte PG-Produktion nachgewiesen werden (33). Arbeiten, bei denen analog zu den hier durchgeführten Versuchen parallel zueinander die Verhältnisse bei verschiedenen Mitogen-Konzentrationen geprüft und außerdem mit den spontan gemessenen PG-Werten verglichen wurden, sind bisher nur von GOODWIN et al. beschrieben. Nach ihren Berichten liegt dabei die PG-Freisetzung in den PHA-Kulturen wesentlich höher als in den mitogenfreien Ansätzen, wobei zudem die Steigerung der PHA-Konzentration auch einen Anstieg der PG-Produktion zur Folge hat (34). Diese Beobachtungen stehen den hier gewonnenen Daten völlig entgegen (Abb. 9). Als Erklärung für diese Diskrepanz ließe sich dabei hauptsächlich die Vermutung äußern, daß die für die PG-Freisetzung notwendigen Zellkomponenten in den verschiedenen Ansätzen in unterschiedlicher Konzentration vorlagen. Da jedoch zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch keine Einigkeit darüber besteht, welche Zellpopulationen als Prostaglandinproduzenten in Frage kommen - diskutiert werden einerseits an Glaswolle-adhärente Zellen (32), andererseits nicht-adhärente T-Zellen (96) -, kann nicht eindeutig beurteilt werden, ob dieser Faktor tatsächlich für die sich widersprechenden Versuchsergebnisse verantwortlich zu machen ist. Es muß daher zukünftigen Untersuchungen vorbehalten bleiben, die hier zugrundeliegenden Ursachen aufzudecken.

Aus den zahlreichen geschilderten Beobachtungen geht insgesamt hervor, welch umfassendes und komplex aufgebautes Phänomen die Beeinflussung immunologischer Vorgänge durch Suppressorzellen darstellt. Es läßt sich dabei erkennen, daß das zu Beginn hinsichtlich der Aktivität dieser Zellpopulationen konstruierte theoretische Modell in keinsten

Weise mit den tatsächlichen Gegebenheiten in Einklang zu bringen ist.

So kann zum einen davon ausgegangen werden, daß die beiden hier getrennt behandelten Suppressorzellpopulationen aller Wahrscheinlichkeit nach in vivo keine voneinander unabhängigen Größen repräsentieren. Neuere Forschungsergebnisse machen deutlich, daß zwischen ihnen vielmehr sehr enge Verflechtungen existieren (26), wobei ihre Aktivitäten möglicherweise zusätzlich in einem umgekehrten Verhältnis zueinander stehen (36,48).

Zum anderen spielt in Verbindung mit Untersuchungen bei malignen Erkrankungen ohne Zweifel die Feststellung eine wichtige Rolle, daß bei diesen Krankheitsbildern stets eine Vielzahl verschiedener, miteinander konkurrierender Immundefekte vorliegt (8,93), wodurch exakte Aussagen weiter erschwert werden.

Es sind daher in Zukunft sicher wesentlich aufwendigere und umfassendere Versuchsansätze notwendig, um einen Einblick in diese Zusammenhänge gewinnen zu können.

Zusammenfassung

Eine zentrale Stellung in der gegenwärtigen immunologischen Forschung nehmen Fragen ein, die sich mit der Klassifizierung und Charakterisierung von Suppressorzellen, ihrem jeweiligen Wirkungsmechanismus sowie ihren möglichen krankheitsbedingten Veränderungen befassen. Zu dem letztgenannten Problemkreis versuchte die vorliegende Arbeit mit Untersuchungen über das Verhalten dieser Zellpopulationen im peripheren Blut von Patienten mit kolorektalen Tumoren beizutragen.

Es konnten dabei drei wesentliche Ergebnisse beschrieben werden:

1. Die mitogen-induzierte Proliferation ist bei den Karzinompatienten im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe signifikant erniedrigt, wobei sich ein enger Zusammenhang zwischen herabgesetzter Proliferationsfähigkeit und Ausbreitungsstadium des Tumors feststellen läßt.
2. Die Patienten zeigen gegenüber den Kontrollpersonen keine veränderte Aktivität ihrer durch Con A induzierbaren Suppressorzellen.
3. Für die Population der PG-produzierenden Suppressorzellen - nachgewiesen einerseits durch die Wirkung von Indometacin auf die mitogen-induzierte Proliferationsrate, andererseits durch eine direkte Bestimmung des von den Lymphozyten freigesetzten Prostaglandins - findet sich ebenfalls kein Aktivitätsunterschied zwischen den beiden untersuchten Kollektiven.

In einer anschließenden ausführlichen Betrachtung wurde versucht, diese Befunde hinsichtlich ihrer Relevanz und in Bezug auf bereits vorliegende Forschungsergebnisse kritisch zu prüfen, wobei auch zahlreiche Aspekte zur Modifi-

kation und Verbesserung der Versuchsansätze diskutiert wurden.

Insgesamt konnte dabei jedoch die Frage, ob die zur Aktivität der beiden Suppressorzellpopulationen gewonnenen Daten tatsächlich ein bei den Tumorpatienten nicht von der Norm abweichendes Verhalten aufzeigen, oder ob sich eine in Wirklichkeit veränderte Suppressorzellfunktion wegen der Komplexität der zugrundeliegenden Vorgänge in vitro lediglich nicht zum Ausdruck bringen ließ, nicht mit ausreichender Sicherheit beantwortet werden. Es muß daher weiteren umfangreichen Untersuchungen vorbehalten bleiben, eine Klärung dieses Problems zu erbringen.

Anhang

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen:

CEA	Carcino-embryonales Antigen
Con A	Concanavalin A
dpm	disintegration per minute (Zerfälle/Minute)
Δ dpm	net disintegration per minute (Nettozerfälle/Minute)
LTT	Lymphozytentransformationstest
MLC	Mixed Lymphocyte Culture
PBL	periphere Blutlymphozyten
PG	Prostaglandin
PHA	Phytohaemagglutinin
RO ⁺	Kulturmedium RPMI 1640 + 2% 200 m L-Glutamin + 1% 1,5 m Hepes + 1% Penstrep (50.000 I.E.)
R10AB ⁺	RO ⁺ + 10% AB-Serum

Literaturverzeichnis

- 1.) ANDERSON, W.L., T.B. TOMASI
Immunosuppression in neoplasia
in: The Handbook of Cancer Immunology Vol.7, S.27-50
Ed. by Harold Waters
Garland STPM Press New York & London 1981
- 2.) ANTEL, J.P., M. WEINRICH, B.G.W. ARNASON
Circulating suppressor cells in man as a function
of age
Clin. Immunol. Immunopathol. 9, 134-141 (1978)
- 3.) ANTEL, J.P., B.G.W. ARNASON
Suppressor cell function in man: evidence for
altered sensitivity of responder cells with age
Clin. Immunol. Immunopathol. 13, 119-124 (1979)
- 4.) BASTEN, A., R.H. LOBLAY, R.J. TRENT, P.A. GATENBY
Suppressor T cells in immune homeostasis and disease
in: Recent Advances in Clinical Immunology No.2, S.33-63
Ed. by R.A. Thompson
Churchill Livingstone Edinburgh, London & New York 1980
- 5.) BIRNBAUM, G., L. SWICK
Human suppressor lymphocytes
I. Induction and characterization
Cell. Immunol. 40, 16-27 (1978)
- 6.) BIRNBAUM, G., L. SWICK
Human suppressor lymphocytes
II. Changes in Concanavalin A inducible suppressor
cells with age
J. Gerontol. 36, 410-415 (1981)
- 7.) BØYUM, A.
Isolation of lymphocytes, granulocytes and macro-
phages
Scand. J. Immunol. 5, 9-15 (1976)
- 8.) BRAUN, D.P., M.A. COBLEIGH, J.E. HARRIS
Multiple concurrent immunoregulatory defects in
cancer patients with depressed PHA-induced lympho-
cyte DNA synthesis
Clin. Immunol. Immunopathol. 17, 89-101 (1980)
- 9.) BRESNIHAN, B., H.E. JASIN
Suppressor function of peripheral blood mononuclear
cells in normal individuals and in patients with
systemic lupus erythematosus
J. Clin. Invest. 59, 106-116 (1977)

- 10.) BRODER, S., R. HUMPHREY, M. DURM, M. BLACKMAN,
B. MEADE, C. GOLDMAN, W. STROBER, T. A. WALDMANN
Impaired synthesis of polyclonal (non-paraprotein)
immunoglobulins by circulating lymphocytes from
patients with multiple myeloma
Role of suppressor cells
N. Engl. J. Med. 293, 887-892 (1975)
- 11.) BRODER, S., L. MUUL, T. A. WALDMANN
Suppressor cells in neoplastic disease
J. Natl. Cancer Inst. 61, 5-11 (1978)
- 12.) CATALONA, W. J., T. L. RATLIFF, R. E. MCCOOL
Concanavalin A-inducible suppressor cells in
regional lymph nodes of cancer patients
Cancer Res. 39, 4372-4377 (1979)
- 13.) CATALONA, W. J., T. L. RATLIFF, R. E. MCCOOL
Concanavalin A-activated suppressor cell activity
in peripheral blood lymphocytes of urologic cancer
patients
J. Natl. Cancer Inst. 65, 553-557 (1980)
- 14.) DE GAST, G. C., T. H. THE, E. PONDS, C. KALLENBERG
Suppression of DNA synthesis by Con A-activated
human lymphocytes
Stimulation by Con A bound to non-T cells unless
removed after activation
Clin. Exp. Immunol. 30, 457-464 (1977)
- 15.) DOBLOUG, J. H., C. CHATTOPADHYAY, Ø. FØRRE,
H. M. HØYERÅL, J. B. NATVIG
Con A-induced suppressor cell activity and T-lympho-
cyte subpopulations in peripheral blood lymphocytes
of patients with rheumatoid arthritis and juvenile
rheumatoid arthritis
Scand. J. Immunol. 13, 367-373 (1981)
- 16.) DOLDI, K.
Spontane Suppressorzellaktivität bei normalen
Personen, M. Crohn Patienten und Patienten mit
kolorektalen Tumoren
Diplomarbeit Erlangen 1982
- 17.) DUTTON, R. W.
Inhibitory and stimulatory effects of Concanavalin A
on the response of mouse spleen cell suspensions
to antigen
I. Characterization of the inhibitory cell activity
J. Exp. Med. 136, 1445-1460 (1972)
- 18.) DUTTON, R. W.
Suppressor T cells
Transplant. Rev. 26, 39-55 (1975)

- 19.) DWYER, J.M., C. JOHNSON, M. DESAULES
Behaviour of human immunoregulatory cells in culture
I. Variables requiring consideration for clinical studies
Clin. Exp. Immunol. 38, 499-513 (1979)
- 20.) DWYER, J.M., C. JOHNSON
The use of Concanavalin A to study the immunoregulation of human T cells
(unveröffentlicht)
- 21.) DWYER, J.M., C. JOHNSON
Spontaneous suppressor cell activity of human lymphocytes
(unveröffentlicht)
- 22.) FEIGHERY, C., C.A. WHELAN, D.G. WEIR, J.F. GREALLY
In vitro studies of suppressor cell function in human peripheral blood mononuclear cells
Clin. Exp. Immunol. 32, 459-465 (1978)
- 23.) FERNANDEZ, L.A., J.M. MACSWEEN
Generation of suppressor cells by Concanavalin A: a new perspective
J. Immunol. 125, 267-269 (1980)
- 24.) FERRARIS, V.A., F.R. DE RUBERTIS
Release of prostaglandin by mitogen- and antigen-stimulated leukocytes in culture
J. Clin. Invest. 54, 378-386 (1974)
- 25.) FINEMAN, S.M., F.B. MUDAWWAR, R.S. GEHA
Characteristics and mechanisms of action of the Concanavalin A-activated suppressor cell in man
Cell. Immunol. 45, 120-132 (1979)
- 26.) FISCHER, A., A. DURANDY, C. GRISCELLI
Role of prostaglandin E2 in the induction of non-specific T lymphocyte suppressor activity
J. Immunol. 126, 1452-1455 (1981)
- 27.) FLEISHER, T.A., W.C. GREENE, R.M. BLAISE, T.A. WALDMANN
Soluble suppressor supernatants elaborated by Concanavalin A-activated human mononuclear cells
II. Characterization of a soluble suppressor of B cell immunoglobulin production
J. Immunol. 126, 1192-1197 (1981)
- 28.) FORBES, I.J., J.L. SMITH
Effects of anti-inflammatory drugs on lymphocytes
Lancet II, 334-337 (1967)

- 29.) FULTON, A.M., J.G. LEVY
The possible role of prostaglandins in mediating
immune suppression by nonspecific T suppressor cells
Cell. Immunol. 52, 29-37 (1980)
- 30.) GERSHON, R.K.
A disquisition on suppressor T cells
Transplant. Rev. 26, 170-185 (1975)
- 31.) GERSHWIN, M.E., A.D. STEINBERG
Loss of suppressor function as a cause of lymphoid
malignancy
Lancet II, 1174-1176 (1973)
- 32.) GOODWIN, J.S., A.D. BANKHURST, R.P. MESSNER
Suppression of human T-cell mitogenesis by prostaglandin
Existence of a prostaglandin-producing suppressor cell
J. Exp. Med. 146, 1719-1734 (1977)
- 33.) GOODWIN, J.S., R.P. MESSNER, A.D. BANKHURST, G.T. PEAKE,
J.H. SAIKI, R.C. WILLIAMS
Prostaglandin-producing suppressor cells in Hodgkin's
disease
N. Engl. J. Med. 297, 963-968 (1977)
- 34.) GOODWIN, J.S., R.P. MESSNER, G.T. PEAKE
Prostaglandin suppression of mitogen-stimulated
lymphocytes in vitro
Changes with mitogen dose and preincubation
J. Clin. Invest. 62, 753-760 (1978)
- 35.) GOODWIN, J.S., R.P. MESSNER
Sensitivity of lymphocytes to prostaglandin E2
increases in subjects over age 70
J. Clin. Invest. 64, 434-439 (1979)
- 36.) GOODWIN, J.S.
Modulation of Concanavalin-A-induced suppressor
cell activation by prostaglandin E2
Cell. Immunol. 49, 421-425 (1980)
- 37.) GREENE, W.C., T.A. FLEISHER, T.A. WALDMANN
Soluble suppressor supernatants elaborated by
Concanavalin A-activated human mononuclear cells
I. Characterization of a soluble suppressor of
T cell proliferation
J. Immunol. 126, 1185-1191 (1981)
- 38.) HALLGREN, H.M., E.J. YUNIS
Suppressor lymphocytes in young and aged humans
J. Immunol. 118, 2004-2008 (1977)

- 39.) HAYNES, B.F., A.S. FAUCI
Activation of human B lymphocytes
III. Concanavalin A-induced generation of suppressor
cells of the plaque-forming cell response of normal
human B lymphocytes
J. Immunol. 118, 2281-2287 (1977)
- 40.) HAYNES, B.F., A.S. FAUCI
Activation of human B lymphocytes
V. Kinetics and mechanisms of suppression of plaque-
forming cell responses by Concanavalin A-generated
suppressor cells
J. Immunol. 120, 700-708 (1978)
- 41.) HERSCOWITZ, H.B., T. SAKANE, A.D. STEINBERG, I. GREEN
Heterogeneity of human suppressor cells induced by
Concanavalin A as determined in simultaneous assays
of immune function
J. Immunol. 124, 1403-1410 (1980)
- 42.) HODGSON, H.J.F., J.R. WANDS, K.J. ISSELBACHER
Decreased suppressor cell activity in inflammatory
bowel disease
Clin. Exp. Immunol. 32, 451-458 (1978)
- 43.) HOFFMAN, R., E.D. ZANJANI, J.D. LUTTON, R. ZALUSKY,
L.R. WASSERMAN
Suppression of erythroid-colony formation by lympho-
cytes from patients with aplastic anemia
N. Engl. J. Med. 296, 10-13 (1977)
- 44.) HUBBARD, W., H. WANEBO, M. FUKUDA, R. PACE
Defective suppressor cell activity in cancer
patients: a defect in immune regulation
Cancer 47, 2177-2184 (1981)
- 45.) HUBERT, C., G. DELESPESE, A. GOVAERTS
Concanavalin A-activated suppressor cells in
normal human peripheral blood lymphocytes
Clin. Exp. Immunol. 26, 95-98 (1976)
- 46.) INKELES, B., J.B. INNES, M.M. KUNTZ, A.S. KADISH,
M.E. WEKSLER
Immunological studies of aging
III. Cytokinetic basis for the impaired response of
lymphocytes from aged humans to plant lectins
J. Exp. Med. 145, 1176-1187 (1977)
- 47.) INNES, J.B., M.M. KUNTZ, Y. TAI KIM, M.E. WEKSLER
Induction of suppressor activity in the autologous
mixed lymphocyte reaction and in cultures with
Concanavalin A
J. Clin. Invest. 64, 1608-1613 (1979)

- 48.) KAUFFMAN, G.R., A.D. BANKHURST, J.S. GOODWIN,
R.C. WILLIAMS
Suppressor leukocytes in cancer patients
Clin. Res. 26, 133A (1978)
- 49.) KAUFMAN, D.B., C. CARNAUD, J.L. STACH, J.F. BACH
The suppressive effect of a supernate from Concanavalin A-activated human lymphocytes: effects of Concanavalin A-activated lymphocytes and their supernates on cytotoxic and mixed lymphocyte reaction
Cell. Immunol. 47, 153-162 (1979)
- 50.) KISHIMOTO, S., S. TOMINO, H. MITSUYA, H. FUJIWARA
Age-related changes in suppressor functions of human T cells
J. Immunol. 123, 1586-1593 (1979)
- 51.) KLAJMAN, A., R. FARKAS, I. DRUCKER, M. SCHNEIDER,
M. BECKER, B. MAN, R. REISS
T-cell-mediated cytotoxicity in patients with colorectal cancer
Clin. Immunol. Immunopathol. 17, 335-343 (1980)
- 52.) KNAPP, W., B. POSCH
Concanavalin A-induced suppressor cell activity: opposing effects of hydrocortisone
J. Immunol. 124, 168-172 (1980)
- 53.) KURITANI, T., T. HIRANO, T. KISHIMOTO, Y. YAMAMURA
In vitro immune response of human peripheral lymphocytes
II. Properties and functions of Concanavalin A-induced suppressor T cells
Microbiol. Immunol. 23, 185-196 (1979)
- 54.) KURNICK, J.T., F. PANDOLFI, H. WIGZELL
Separation of mitogen-induced suppressor cells of human antibody-producing cells
Cell. Immunol. 54, 373-381 (1980)
- 55.) LAUGHTER, A.H., J.J. TWOMEY
Suppression of lymphoproliferation by high concentrations of normal human mononuclear leukocytes
J. Immunol. 119, 173-179 (1977)
- 56.) LICHTENSTEIN, A., R. MURAHATA, M. TERPENNING,
J. CANTRELL, J. ZIGHELBOIM
Activation and mechanism of action of suppressor macrophages
Cell. Immunol. 64, 150-161 (1981)
- 57.) LOBO, P.I., C.E. SPENCER
Inhibition of humoral and cell-mediated immune responses in man by distinct suppressor cell systems
J. Clin. Invest. 63, 1157-1163 (1979)

- 58.) LOMNITZER, R., A.R. RABSON
Mechanism of suppression of lymphocyte proliferation
by Concanavalin A-activated mononuclear cells
Immunology 43, 475-481 (1981)
- 59.) MASSOUD, A., H. IMANIAN, F. ALA
Mitogen-induced suppressor T cell activity in
the in vitro cellular immune response
J. Immunol. Methods 31, 51-63 (1979)
- 60.) MAYUMI, M., T. YOSHIDA, K. SHINOMIYA, S. I. NISHIKAWA,
T. HIRATA, T. IZUMI, H. MIKAWA
Effects of Concanavalin A-induced cells on the
proliferative response of T cells
Concanavalin A-induced suppressor and amplifier
cells to the proliferative response of human T cells
to Trinitrophenyl-modified autologous lymphocytes
J. Immunol. 123, 772-777 (1979)
- 61.) MIYAWAKI, T., M. KUBO, T. NAGAOKI, N. MORIYA,
T. YOKOI, M. MUKAI, N. TANIGUCHI
Developmental changes in humoral suppressor activity
released from Concanavalin A-stimulated human lympho-
cytes on B cell differentiation
J. Immunol. 126, 1720-1723 (1981)
- 62.) MURGITA, R. A., E. A. GOIDL, S. KONTIAINEN, H. WIGZELL
Alpha-Fetoprotein induces suppressor T cells in vitro
Nature 267, 257-259 (1977)
- 63.) NEWMAN, B., S. BLANK, R. LOMNITZER, P. DISLER,
A. R. RABSON
Lack of suppressor cell activity in systemic
lupus erythematosus
Clin. Immunol. Immunopathol. 13, 187-193 (1979)
- 64.) PALACIOS, R., G. MÖLLER
T cell growth factor abrogates Concanavalin A-
induced suppressor cell function
J. Exp. Med. 153, 1360-1365 (1981)
- 65.) PANUSH, R. S.
Effects of certain antirheumatic drugs on normal
human peripheral blood lymphocytes
Inhibition of mitogen- and antigen-stimulated
incorporation of tritiated thymidine
Arthritis Rheum. 19, 907-917 (1976)
- 66.) PELUS, L. M., H. R. STRAUSSER
Prostaglandins and the immune response
Life Sci. 20, 903-914 (1977)
- 67.) RAFF, H. V., K. C. COCHRUM, J. D. STORO
Macrophage-T cell interactions in the Con A
induction of human suppressive T cells
J. Immunol. 121, 2311-2315 (1978)

- 68.) REINHERZ, E.L., S.F. SCHLOSSMAN
The differentiation and function of human
T lymphocytes
Cell 19, 821-827 (1980)
- 69.) REMACLE-BONNET, M.M., G.J. POMMIER, S. KAPLANSKI,
R.J. RANCE, R.C. DEPIEDS
Inhibition of normal allogenic lymphocyte mitogenesis
by a soluble inhibitor extracted from human colonic
carcinoma
J. Immunol. 117, 1145-1151 (1976)
- 70.) RICE, L., A.H. LAUGHTER, J.J. TWOMEY
Three suppressor systems in human blood that
modulate lymphoproliferation
J. Immunol. 122, 991-996 (1979)
- 71.) ROGERS, T.J., I. NOWOWIEJSKI, D.R. WEBB
Partial characterization of a prostaglandin-
induced suppressor factor
Cell. Immunol. 50, 82-93 (1980)
- 72.) SAKANE, T., I. GREEN
Human suppressor T cells induced by Concanavalin A:
suppressor T cells belong to distinctive T cell
subclasses
J. Immunol. 119, 1169-1178 (1977)
- 73.) SCHAAF-LAFONTAINE, N., G. DEGIOVANNI
Suppressor T cells
Pathol. Res. Pract. 171, 159-172 (1981)
- 74.) SCHULOF, R.S., J.A. GAROFALO, R.A. GOOD, S. GUPTA
Concanavalin A-induced suppressor cell activity
for T-cell proliferative responses: autologous
and allogeneic suppression in aging humans
Cell. Immunol. 56, 80-88 (1980)
- 75.) SCHULOF, R.S., B.J. LEE, M.J. LACHER, D.J. STRAUS,
B.D. CLARKSON, R.A. GOOD, S. GUPTA
Concanavalin A-induced suppressor cell activity
in Hodgkin's disease
Clin. Immunol. Immunopathol. 16, 454-462 (1980)
- 76.) SCHWARTZ, A., S.L. SUTTON, P.W. ASKENASE, R.K. GERSHON
Histamine inhibition of Concanavalin A-induced
suppressor T-cell activation
Cell. Immunol. 60, 426-439 (1981)
- 77.) SHAND, F.L., I.M. ORME, J. IVANYI
The induction of suppressor T cells by Concan-
avalin A is independent of cellular proliferation
and protein synthesis
Scand. J. Immunol. 12, 223-231 (1980)

- 78.) SHOU, L., S.A. SCHWARTZ, R.A. GOOD
Suppressor cell activity after Concanavalin A
treatment of lymphocytes from normal donors
J. Exp. Med. 143, 1100-1110 (1976)
- 79.) SMITH, C.I., A. SVEJGAARD
Concanavalin-A-induced suppressor lymphocytes
in normal individuals
Scand. J. Immunol. 13, 483-492 (1981)
- 80.) STOBO, J.D., S. PAUL, R.E. VAN SCOY, P.E. HERMANS
Suppressor thymus-derived lymphocytes in fungal
infection
J. Clin. Invest. 57, 319-328 (1976)
- 81.) STOBO, J.D.
Immunosuppression in man: suppression by macro-
phages can be mediated by interactions with
regulatory T cells
J. Immunol. 119, 918-924 (1977)
- 82.) STOBO, J.D., M.S. KENNEDY, M.E. GOLDYNE
Prostaglandin E modulation of the mitogenic
response of human T cells
J. Clin. Invest. 64, 1188-1195 (1979)
- 83.) TARDIEU, M., J.M. DUPUY
Suppressor activity of lymphocytes from patients
with systemic lupus erythematosus
Clin. Immunol. Immunopathol. 11, 125-130 (1978)
- 84.) THOMAS, Y., R. HUCHET, D. GRANJON
Histamine-induced suppressor cells of lympho-
cyte mitogenic response
Cell. Immunol. 59, 268-275 (1981)
- 85.) TOGE, T., E. YANAGAWA, K. NAKANISHI, Y. YAMADA,
M. NIIMOTO, T. HATTORI
Concanavalin A-activated suppressor cell activity
in gastric cancer patients
Gann 71, 784-789 (1980)
- 86.) TREVES, A.J., A. HOROWITZ, S. BIRAN, G. BRUFMAN,
Z. FUKS
Comparison of the response to PHA and suppressor
macrophage function in different age groups of
cancer patients and healthy controls
Cancer 48, 2606-2611 (1981)
- 87.) TWOMEY, J.J., A.H. LAUGHTER, S. FARROW, C.C. DOUGLASS
Hodgkin's disease
An immunodepleting and immunosuppressive disorder
J. Clin. Invest. 56, 467-475 (1975)

- 88.) TWOMEY, J.J., A.H. LAUGHTER, L. RICE, R. FORD
Spectrum of immunodeficiencies with Hodgkin's disease
J. Clin. Invest. 66, 629-637 (1980)
- 89.) UEHIDA, A., T. HOSHINO
Clinical studies on cell-mediated immunity in patients with malignant disease
II. Suppressor cells in patients with cancer
Cancer Immunol. Immunother. 9, 153-158 (1980)
- 90.) VANHAELEN, C.P.J., R.I. FISHER
Increased sensitivity of lymphocytes from patients with Hodgkin's disease to Concanavalin A-induced suppressor cells
J. Immunol. 127, 1216-1220 (1981)
- 91.) VICTORINO, R.M.M., H.J.F. HODGSON
Relationship between T cell subpopulations and the mitogen responsiveness and suppressor cell function of peripheral blood mononuclear cells in normal individuals
Clin. Exp. Immunol. 42, 571-578 (1980)
- 92.) VOGELSANG, H., G. HEIN, L. JÄGER
Untersuchungen zur Suppressorzellaktivität bei Rheumatoider Arthritis
Z. Rheumatol. 39, 141-144 (1980)
- 93.) VOSE, B.M., M. MOORE
Heterogeneity of suppressors of mitogen responsiveness in human malignancy
Cancer Immunol. Immunother. 9, 163-171 (1980)
- 94.) WALDMANN, T.A., S. BRODER, R.M. BLAESE, M. DURM, M. BLACKMAN, W. STROBER
Role of suppressor T cells in pathogenesis of common variable hypogammaglobulinaemia
Lancet II, 609-613 (1974)
- 95.) WALDMANN, T.A., R.M. BLAESE, S. BRODER, R.S. KRAKAUER
Disorders of suppressor immunoregulatory cells in the pathogenesis of immunodeficiency and autoimmunity
Ann. Intern. Med. 88, 226-238 (1978)
- 96.) WEBB, D.R., I. NOWOWIEJSKI
Mitogen-induced changes in lymphocyte prostaglandin levels: a signal for the induction of suppressor cell activity
Cell. Immunol. 41, 72-85 (1978)

- 97.) WEBB,D.R., I.NOWOWIEJSKI
Control of suppressor cell activation via
endogenous prostaglandin synthesis: the role
of T cells and macrophages
Cell. Immunol. 63, 321-328 (1981)
- 98.) WERKMEISTER,J., G.PHILLIPS, W.McCARTHY, P.HERSEY
Suppressor cell activity in melanoma patients
II. Concanavalin A-induced suppressor cells in
relation to tumor growth and suppressor T-cell
subsets
Int. J. Cancer 28, 11-15 (1981)
- 99.) WINGER,L.A., P.C.NOWELL, R.P.DANIELE
Sequential proliferation induced in human
peripheral blood lymphocytes by mitogen
II. Suppression by PHA-activated cells
J. Immunol. 118, 1768-1773 (1977)
- 100.) WINGER,L.A., P.C.NOWELL, R.P.DANIELE
Sequential proliferation induced in human
peripheral blood lymphocytes by mitogen
III. Possible mechanisms of suppression
by PHA-activated cells
J. Immunol. 121, 2422-2428 (1978)
- 101.) WOLINSKY,S.I., J.S.GOODWIN, R.P.MESSNER,
R.C.WILLIAMS
Role of prostaglandin in the depressed cell-
mediated immune response in rheumatoid arthritis
Clin. Immunol. Immunopathol. 17, 31-37 (1980)
- 102.) ZEMBALA,M., B.MYTAR, T.POPIELA, G.L.ASHERSON
Depressed in vitro peripheral blood lymphocyte
response to mitogens in cancer patients: the
role of suppressor cells
Int. J. Cancer 19, 605-613 (1977)

An dieser Stelle möchte ich allen aufrichtig danken, die am Zustandekommen und Gelingen dieser Arbeit beteiligt waren:

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. J. R. Kalden für die Überlassung des Themas, für seine motivierende Betreuung und seine stets ausführliche Beratung bei allen auftretenden Problemen.

Ebenso zu danken habe ich Herrn Prof. Dr. med. F. P. Gall und seinen Mitarbeitern für die gute Zusammenarbeit mit der Chirurgischen Universitätsklinik Erlangen sowie Herrn Prof. Dr. med. P. Hermanek, der mir freundlicherweise die histologischen Befunde zur Verfügung stellte.

Großen Dank schulde ich weiterhin Herrn Prof. Dr. med. D. Gemsa, Heidelberg, für die Durchführung der Prostaglandinbestimmungen.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der immunologischen Laboratorien, insbesondere Frä. A. Sendler, Frau A. Beck und Frau D. Stärtzel, danke ich für die freundliche Aufnahme in ihrem Kreis und für ihre ständige großzügige Hilfestellung bei der praktischen Durchführung der Versuche.

Nicht zuletzt gilt mein Dank allen freiwilligen Blutspendern.

Lebenslauf

Ich wurde am 5. Juni 1956 in Nürnberg geboren als erste von zwei Töchtern des Arztehepaares Dr. med. Hans Schumacher und Dr. med. Andrea Schumacher, geb. Reifert. Im September 1962 trat ich in die Volksschule Hegelstraße in Nürnberg ein.

Im September 1966 Übertritt in die 5. Klasse des Willstätter-Gymnasiums in Nürnberg.

Dort erhielt ich nach 13-jähriger Schulzeit am 21.6.1975 das Zeugnis der Allgemeinen Hochschulreife.

Im Wintersemester 1975/76 Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.

Die Ärztliche Vorprüfung legte ich am 31.8.1977 in Erlangen ab, am 31.8.1978 den ersten Abschnitt und am 21.3.1981 den zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.

Mit Bestehen des dritten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung beendete ich am 18.5.1982 in Erlangen das Studium der Humanmedizin.

Am 25.5.1982 wurde mir die Approbation als Arzt erteilt.

